

**Untersuchungen an meristematischen
Pflanzenzellen über die Abhängigkeit der
Wirkung ionisierender Strahlen von
zellulären Parametern**

Inaugural-Dissertation

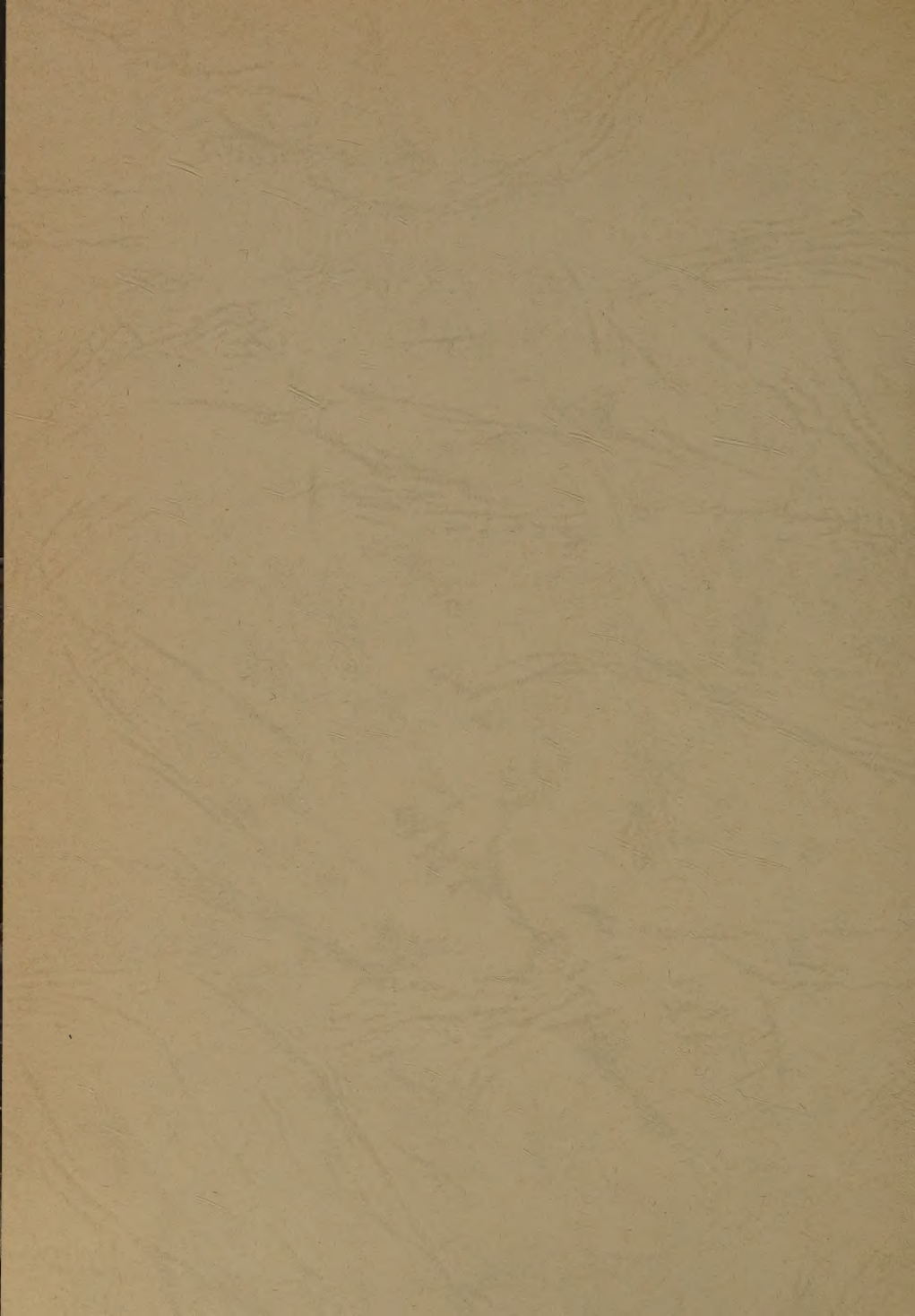
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Georg Seibold

aus Höchst/Odenw.

Gießen, Februar 1971



**Untersuchungen an meristematischen
Pflanzenzellen über die Abhängigkeit der
Wirkung ionisierender Strahlen von
zellulären Parametern**

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen**

vorgelegt von

Georg Seibold

aus Höchst/Odenw.

Gießen, Februar 1971



Dekan : Prof. Dr.phil. Gernot Eder

I. Berichterstatter: Prof. Dr.rer.nat.Alfred Schraub

II. Berichterstatter: Prof. Dr.rer.nat. Helmut Schraudolf

Tag der mündlichen Prüfung: 22.3.71

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	<u>EINFÜHRUNG UND PROBLEMSTELLUNG</u>	
1.	Einleitung	5
2.	Problemstellung	8
II.	<u>BEDEUTUNG DER NUKLEINSÄUREN FÜR DIE BIOLOGISCHE WIRKUNG IONISIERENDER STRAHLEN</u>	11
III.	<u>METHODISCHER TEIL</u>	
1.	Wurzelmeristemzellen als Untersuchungsobjekt	14
2.	Kulturbedingungen und Standardbehandlung	18
3.	Bestrahlungsbedingungen und Dosimetrie	21
a)	Kurzzeitbestrahlung	21
b)	Dauerbestrahlung	24
4.	Bestimmung der zellulären Parameter	25
a)	Interphase -Kernvolumen	25
b)	Desoxyribonukleinsäure - Gehalt	26
c)	Interphase- Chromosomen- Volumen (ICV) und DNS-Gehalt/Chromosom	27
d)	Mitosezykluszeit	29
IV.	<u>ERGEBNISSE</u>	
1.	Ergebnisse nach Kurzzeitbestrahlung	31
a)	Parameter der Strahlenwirkung	31
b)	Diskussion der Ergebnisse	52
2.	Ergebnisse und Diskussion der Dauerbestrahlungsversuche	58
V.	<u>BEZIEHUNGEN ZWISCHEN STRAHLENEMPFINDLICHKEIT UND ZELLULÄREN PARAMETERN</u>	
1.	Schlußfolgerungen aus den Resultaten nach Kurzzeitbestrahlung	66
2.	Schlußfolgerungen aus den Resultaten nach Dauerbestrahlung	77

	Seite
VI. <u>DISKUSSION</u>	81
VII. <u>STRAHLENEMPFINDLICHKEIT UND POLYPLOIDIE</u>	88
<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	93
Tabelle III	96
Tabelle IV	97
Anhang I - III	98
Verzeichnis der Abbildungen	107
Verzeichnis der Tabellen	109
Literaturverzeichnis	110
Lebenslauf	

I. EINFÜHRUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1. Einleitung

Das Interesse an der Aufklärung der Wirkung ionisierender Strahlen konzentrierte sich in den letzten Jahren in zunehmendem Maße auf strahleninduzierte Veränderungen an Makromolekülen. Dabei sollten, der historischen Entwicklung der Strahlenbiologie folgend, ihre einzelnen Phasen mit ihren Anregungen für die Strahlentherapie, Genetik und allgemeine Biologie nicht unerwähnt bleiben. Gerade die Vorstellung zur zwar formalen, aber exakten mathematischen Interpretation der Überlebenskurven hat viel zur quantitativen Beschreibung der Strahlenwirkung und zum Verständnis von Energieabsorption und Energieübertragung beigetragen. Die Grundzüge der "Treffertheorie der Strahlenwirkung" und ihre Entwicklung dokumentieren sich in einer Reihe grundlegender theoretischer Arbeiten von Dessauer (1922), Blau und Altenburger (1922), Crowther (1924), die später von Lea (1946), Timoféeff-Ressovsky und Zimmer (1947, 1960) erweitert wurden. Darin wurden erstmals konsequent neue physikalische Erkenntnisse auf biologische Systeme übertragen, und man versuchte, Rückschlüsse auf wirksame Schädigungsmechanismen zu ziehen. Dabei blieb lange Zeit die Tatsache unberücksichtigt, daß die letztlich meßbare biologische Schädigung (Verlust der Teilungsfähigkeit) nicht als direkte Folge der Energieabsorption anzusehen ist, sondern am Ende einer großen Zahl physikochemischer, biochemischer und biologischer Reaktionen eintritt (Abb. 1). Als Konsequenz dieser Überlegungen konzentrierte sich in den letzten 10-15 Jahren das Interesse der Strahlenbiologen und Biophysiker mehr auf die Aufklärung der, der primären Energieabsorption folgenden Reaktionen auf molekularer und zellulärer Ebene. Diese Anstrengungen wurden von der Entwicklung der modernen Biologie gestützt, die offenbar zeigt, daß biologische Objekte auf molekularer Ebene einheit-

Unabhängig voneinander zeigten erstmals Lea (1940) und Wollmann und Lacassagne (1940), daß eine Zuordnung zwischen der Größe der Viren und ihrer Strahlenempfindlichkeit besteht. Spätere Untersuchungen von Epstein (1953) bewiesen, daß eine größere Übereinstimmung zwischen theoretisch berechnetem Treffervolumen und dem Nukleinsäurevolumen vorhanden ist. Terzi (1961, 1965) wählte das Molekulargewicht der DNS als Parameter und kommt zu ähnlichen Ergebnissen, wobei er in seine Untersuchung auch Resultate aus Experimenten mit Bakterien, Hefe- und Säugerzellen mit einbezog. Kaplan und Moses (1964) bestätigten diese Ergebnisse und zeigten einen proportionalen Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und dem Nucleotidgehalt pro Genom, letztlich dem DNS-Gehalt, auf. Dabei sahen sich die Autoren, wie zuvor schon Terzi (1961), gezwungen, die einzelnen biologischen Objekte, entsprechend ihrer genetischen Komplexizität und der Molekülstruktur der DNS, in vier verschiedene strahlenempfindliche Klassen einzuteilen: 1. RNS-Viren und Viren mit einsträngiger DNS, 2. Viren mit doppelsträngiger DNS, 3. Bakterien und haploide Hefen, 4. diploide Zellen, diploide Hefen und Bakterien.

Eine Systematisierung der Strahlenschädigung, zunächst nur auf Pflanzenzellen bezogen, wurde von A.H. Sparrow zusammen mit seinen Mitarbeitern seit 1953 versucht und in einer Reihe von Aufsätzen publiziert. Neu war dabei, daß sie das Konzept der Treffertheorie zur Charakterisierung eines Treffbereichs auch auf andere zelluläre Parameter ausdehnten. So wurden unter anderem das Kernvolumen, das Chromosomenvolumen, die DNS-Konzentration und das Molekulargewicht als primäres Target angenommen und in Beziehung zu verschiedenen strahleninduzierten Veränderungen der Pflanzen oder Teile davon gesetzt. Dabei zeigte sich eher eine signifikante Korrelation zwischen dem Interphase-Chromosomenvolumen und der Strahlenschädigung als zwischen dem Kernvolumen oder dem Gesamt-DNS-Gehalt der Zellen.

In einer neueren Publikation von Sparrow et al. (1967) wurden nun auf Grund zahlreicher Literaturangaben über exakte Dosiswerte, die an Einzelzellen gewonnen wurden, Beziehungen zwischen der zellulären Strahlenempfindlichkeit und dem Interphase-Chromosomenvolumen von 79 verschiedenen Arten aufgestellt. Bei doppellogarithmischer Darstellung der Dosis (D_0) über dem Chromosomenvolumen ergab sich eine Serie von 8 Regressionsgeraden (Radiotaxa), deren Steigung sich nicht signifikant von -1 unterschied.

Das Konzept ihrer Überlegungen beruht auf der Vorstellung der Treffertheorie, daß man aus den quantitativen Angaben eines kritischen Treffbereichs (DNS-Menge oder Chromosomenvolumen) vergleichende Aussagen bezüglich der zur Inaktivierung notwendigen Dosis, bzw. der absorbierten Energie und der Inaktivierung, Inaktivierungsmechanismen und zellulären Parameter machen kann. Dabei hat sich gezeigt, daß jede dieser Regressionsgeraden eine Gruppe von Objekten repräsentiert, in der die D_0 umgekehrt proportional zum mittleren Chromosomen-Volumen ist. Bei dieser Aufstellung fällt auf, daß zwar viele D_0 -Werte für Mikroorganismen, dagegen kaum Dosiswerte für Zellen höherer Organismen und vor allem für Pflanzenzellen angegeben sind - ein Mangel, der möglicherweise zu Korrekturen innerhalb der Radiotaxa 5-8 (diploide und polyploide Zellen) führen muß.

2. Problemstellung

Die Schwierigkeit für die Angabe exakter D_{37} -Werte liegt darin, daß bei den meisten Pflanzen die Beobachtung der zellulären Ebene hinsichtlich ihrer Reproduktionsfähigkeit nach Bestrahlung nicht zugänglich ist. Hier ist man auf Modellvorstellungen und mathematische Berechnungen der Überlebensraten angewiesen. Kiefer (1965, b 1966) gibt ein solches populationskinetisches Modell für Gerstenwurzeln an. Es erlaubt, in enger An-

lehnung an die meßbaren makroskopischen Parameter, die Dosis-Effekt-Kurven der Zellüberlebensrate im Wurzelmeristem nach Bestrahlung zu berechnen. Damit war es möglich, aus den Überlebenskurven Dosiswerte (D_0) anzugeben, die mit denen von Einzelzellen aus Zellkulturen oder Mikroorganismen vergleichbar sind.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun zunächst gezeigt werden, daß diese Modellvorstellungen zur Beschreibung der Strahlenwirkung auf Wurzelmeristemzellen mit Erfolg auch auf andere Objekte als Gerste übertragen werden können. Darüber hinaus schien es möglich, die eingangs erwähnte Korrelation für exakte D_0 -Werte höherer Pflanzenzellen zu prüfen. Dazu wurden zunächst bei einer Reihe von Pflanzen (Tab. I) verschiedene Zellkomponenten (Zykluszeit, DNS-Gehalt, Kernvolumen) experimentell erfaßt. Weiter wurden für diese Objekte makroskopisch meßbare Veränderungen des Wurzelwachstums als Folge der Strahlenwirkung, sowohl nach Einzeit- als auch nach Dauerbestrahlung, ermittelt und zur Berechnung der D_0 -Werte benutzt.

In der Gegenüberstellung der Strahlenempfindlichkeit und den erfaßten zellulären Parametern lag das eigentliche Ziel der Untersuchungen. Vorab kann hier schon gesagt werden, daß sie für höhere Pflanzenzellen das Konzept von Sparrow und Mitarbeitern bestätigen, wonach das Chromosomenvolumen, bzw. der DNS-Gehalt pro Chromosom, proportional zur zellulären Wirkung ionisierender Strahlen steht. Darüber hinaus geben die Ergebnisse im Zusammenhang mit Literaturangaben Anlaß zur Diskussion einer Reihe zellulärer Reaktionen und Inaktivierungsmechanismen an der DNS. Diese Überlegungen deuten darauf hin, daß die Nukleinsäuren als primärer Treffbereich anzusehen sind. Sie zeigen aber auch, daß - als Konsequenz der geschilderten Versuche - die Treffertheorie für die Beschreibung des Verhaltens der Zellen nach Bestrahlung und ihre Fähigkeit zu überleben nicht mehr uneingeschränkt angewandt werden kann. Einige Arbeiten der

letzten Jahre (Hug und Kellerer, 1966; Haynes, 1966; Kiefer, 1970) zeigen hier Möglichkeiten auf, die molekularen Reaktionen mit ihrem funktionellen Charakter für die Strahlenschädigung zu berücksichtigen.

Ein sehr nützlicher Aspekt solcher Untersuchungen zur Korrelation der Strahlenempfindlichkeit liegt in der Möglichkeit, bei Kenntnis der zellulären Parameter die Dosis abzuschätzen, die für die Auslösung bestimmter Reaktionen (z.B. Sterilisation, Mutation etc.) notwendig ist.

II. DIE BEDEUTUNG DER NUKLEINSÄUREN FÜR DIE BIOLOGISCHE WIRKUNG IONISIERENDER STRAHLEN

Die Nukleinsäuren sind für die biochemischen Funktionen der Viren und Zellen und deren Reproduktionsfähigkeit von zentraler Bedeutung. Außer bei wenigen Ribonukleinsäure (RNS)-Viren sind die Desoxyribonukleinsäuren (DNS) Träger der genetischen Information. Diese Sonderstellung wurde in den letzten zwei Dekaden immer mehr erkannt und ließ die Untersuchung der Strahlenwirkung auf DNS und RNS zum zentralen Gegenstand der Strahlenbiologie werden.

Für den sichtbaren Bereich elektromagnetischer Strahlung bis zum UV-Bereich von 200 nm lassen sich solche Relationen infolge der gesamten Absorption eines Quants und des daraus resultierenden Resonanzcharakters leicht zeigen ("Aktionsspektren"). Knapp (1939) zeigte erstmals, daß die Aktionsspektren zur Inaktivierung von Pflanzenzellen (*Sphaerocarpus*) mit den Absorptionsspektren der Nukleinsäuren übereinstimmen. Später wurde erkannt, daß die primäre Schädigung auf die Thymin-Dimerenbildung in den Nukleinsäuren zurückzuführen ist (z.B. Wacker, 1963; Setlow und Setlow, 1962; J. Setlow, 1964, 1966; Beukers und Berends, 1960).

Die biologische Bedeutung der Dimerenbildung für die UV-Inaktivierung der Zellen und andere damit korrelierbare Mechanismen (z.B. Verlust der Transformationsfähigkeit) zeigt sich im wesentlichen in:

1. einer Korrelation zwischen zunehmender Dimerenbildung und abnehmender Überlebensrate,
2. der Tatsache, daß im UV-Bereich bei 280 nm die größte Ausbeute an Thymin-Dimeren zu erzielen ist (Setlow, 1964),
3. einer Abhängigkeit der Inaktivierungsrate vom Adenin-Thymin-(A-T) Gehalt der DNS (Kaplan und Zevarine, 1962; Haynes, 1962),

4. dem Auftreten spezifischer Reparatursysteme (Photoreaktivierung), die sich in vitro und ^{in/}vivo an UV- bestrahlten Nukleinsäuren nachweisen lassen (Rupert, 1965; Harm, 1969),
5. dem Einbau von Basenanalogen (Bromuracil) und einer damit verbundenen Sensibilisierung (Kaplan, 1962; Szybalski und Opera-Kubinsky, 1965).

Der Einbau von Bromuracil (BU) in die DNS und die damit verbundene Sensibilisierung liefert einen schlüssigen Beweis für die Bedeutung der DNS als primären Treffbereich der UV-Strahlung. Treffbereich soll hier nicht im Sinne des formalen Treffbereichs der Treffertheorie verstanden werden, sondern als spezifischer molekular-biologischer Wirkort.

Für ionisierende Strahlen lassen sich keine eindeutigen Aussagen darüber machen, an welcher Stelle in der Zelle der Initialschaden gesetzt wird. Betrachtet man jedoch die biologische Funktion der Nukleinsäuren, so kann man indirekt Gründe dafür finden, warum auch für ionisierende Strahlen die DNS als empfindlicher Treffbereich (primary-target-molecule) anzusehen ist. Zwei experimentelle Befunde sprechen für die Richtigkeit dieser Annahme. Für ionisierende Strahlen wird ebenfalls eine Sensibilisierung durch BU-Substitution gefunden, wobei eine Korrelation zwischen Koloniebildungsfähigkeit und der Zunahme an DNS-Doppelstrangbrüchen möglich ist (Kaplan, 1966). Zum anderen kann man, wie in dieser Arbeit gezeigt wird, die Strahlenempfindlichkeit mit dem DNS-Gehalt von verschiedenen biologischen Objekten in Beziehung setzen.

Szybalski (1966) klassifiziert die strahleninduzierte Veränderung der DNS nach:

- a) direkter Schädigung, die sich im Einzel- und Doppelstrangbruch manifestiert;
- b) indirekter Schädigung, verursacht durch freie Radikale, die ebenfalls Einzel- und Doppelstrangbrüche hervorrufen und

c) indirekter Schädigung durch freie Radikale, die zu Basenveränderungen führen.

Weitere Veränderungen der DNS-Moleküle, wie Vernetzungen, Zerstörung der Wasserstoff-Brücken sowie Veränderungen an den Basen-, Zucker- oder Phosphorcliesterbindungen sind bekannt und vorwiegend an isolierten Systemen untersucht worden (Zusammenfassung bei Detinger-Jung, 1969).

Im Gegensatz dazu ist offenbar die Wirkung ionisierender Strahlen in Plasmabereichen der Zelle in ihrer Auswirkung auf die Reproduktionsfähigkeit sehr viel geringer. Aus Experimenten mit fokussierten Röntgenstrahlen (Ulrich, 1955, an *Drosophila* Eiern) oder α -Strahlen (Zirkle, 1932/33, an Farnsporen) ist bekannt, daß bei einer Bestrahlung des Zellkerns die Strahlenempfindlichkeit etwa 10^2 mal größer ist gegenüber einer Plasmabe-strahlung. Zirkel und Bloom (1953) zeigten an Einzelzellen aus Zellkulturen, daß wenige Protonen, mit einem Protonenstrahl im Zellkern appliziert, zu schweren Chromosomenaberrationen führen. Wird dagegen das Cytoplasma bestrahlt, so ist auch bei einem um 10^3 größeren Protonenfluß keine Abnahme der reproduktiven Teilungsfähigkeit festzustellen.

Diese und eine Reihe anderer Beobachtungen (Mutationsauslösung, Rekombinationen, Reparaturvermögen etc.), deren Aufzählung hier zu weit führen würde, sprechen für die dominierende Rolle der DNS als kritischen Treffbereich, dessen Schädigung zum Teilungsverlust führen kann. Diese Annahme muß jedoch nicht unbedingt zutreffen, da a priori auch andere Strukturen in der Zelle durch ionisierende Strahlen geschädigt werden können, so daß die Zelle zu weiteren Teilungen nicht mehr fähig ist (Bacq und Alexander, 1961).

III. METHODISCHER TEIL

1. Wurzelmeristemzellen als Untersuchungsobjekt

Die Apikalmeristeme von Pflanzen, die Vegetationspunkte von Sprossen und Wurzeln, sind ständig embryonale Regionen. Sie sind Orte der Zellteilung, des Längenwachstums und der Differenzierungsvorgänge. Die meisten Untersuchungen zur Wirkung ionisierender Strahlen an Pflanzen werden an Wurzelspitzen durchgeführt, da diese leichter zugänglich, gut zu kultivieren und die Parameter einer Strahlenwirkung einfacher zu erfassen sind als bei Sproßspitzen. Außerdem läßt sich zur statistischen Sicherung der Meßwerte ohne größeren Aufwand eine genügende Anzahl von Pflanzenwurzeln kultivieren. Diese Gründe gelten vorab auch für die experimentelle Arbeit dieser Untersuchung in Bezug auf die Wahl der Objekte, besonders aber für die histologischen Arbeitsmethoden und die quantitativen Messungen.

Der histologische Aufbau der Wurzelspitze ist, wenn auch in Organisation und Funktion noch wenig geklärt, doch auf ein Grundschemata zurückzuführen (Abb. 2).

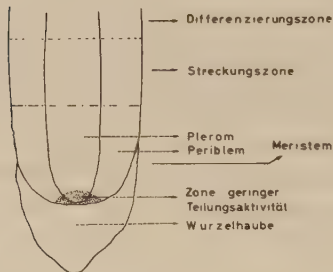


Abb.2: Schematischer Aufbau einer Gramineen-Wurzelspitze.

Die Wurzelhaube oder Kalyptra schließt eine Zone teilungsfähiger Zellen ein, den eigentlichen meristematischen Bereich. Daran schließt sich die Streckungszone an, von der der makroskopisch registrierbare Zuwachs ausgeht. Die Streckung erfolgt durch Wasseraufnahme der einzelnen Zellen und deren Volumenänderung. Analog dazu tritt eine Differenzierung der Zellen ein. Nach der Streckung durchlaufen die Zellen weitere Differenzierungsvorgänge und bilden das Dauergewebe der Wurzel.

Jeder dieser Bereiche ist räumlich begrenzt, und die Zellen, in einem Muster angeordnet (Abb.3), sind gut zu unterscheiden. Diese Muster entstehen dadurch, daß die Ebenen und die Zahl der Zellteilungen in Bezug auf die Lage der Zellen innerhalb einer Wurzelspitze durch Regelmechanismen kontrolliert werden.



Abb.3: Anordnung der Zellen im Wurzelmeristem. Die besonders gekennzeichneten Bereiche zeigen Interphasekerne zwischen zwei Mitosestadien (G_1 -- S -- G_2 -Zellen), wie sie zur Bestimmung der Kernvolumina ausgemessen wurden.

Für den meristematischen Bereich ist zu erwarten, daß die Zellkerne vorwiegend in diploider Phase vorliegen und Endomitosen nicht anzutreffen sind.

Exakte Beschreibungen des morphologischen Aufbaus verschiedener Pflanzenwurzeln sind von v. Guttenberg (1961) und von Clowes (1961, 1963) angegeben worden. Clowes zeigt dabei, daß verschiedene Pflanzenarten (*Sinapis*, *Zeamays*, *Vicia faba*) im Meristem einen Zellbereich geringerer Teilungsaktivität, das "quiescent center", haben. Für den größten Teil der hier untersuchten Objekte (siehe Tab. I) sind jedoch diesbezüglich keine Angaben bekannt. Beide Befunde sind für die Diskussion der Ergebnisse dieser Arbeit nicht unwesentlich.

Darüber hinaus gibt es eine Reihe von populations-kinetischen Modellen (Gray und Scholes, 1951; Van't Hof und Ying, 1964; Kiefer, 1965; Oliver et al. 1962), in denen eine Beschreibung über Organisation, Kontrolle und Verhalten bestimmter Zellen, sowohl für mikroskopische als auch makroskopische Parameter, angegeben wird. Die Berechtigung zu solchen Modellvorstellungen resultiert einmal aus der einfachen geometrischen Anordnung der Zellen im Wurzelmeristem und ihrer festgelegten Teilungsfolge. Zum anderen kann deren Gültigkeit durch experimentelle Eingriffe verifiziert und so nachgeprüft werden. Über die Möglichkeit, durch ionisierende Strahlen diese Organisation zu stören, bieten Wurzelspitzen ein ideales System, eingangs erwähnte Parameter zur Klärung zellulärer Inaktivierungsmechanismen zu studieren.

In Tabelle I sind die untersuchten Pflanzenarten, vorwiegend Getreidearten, angegeben.

Tabelle I: Folgende Pflanzenarten werden in die Experimente mit einbezogen

		Chromosom mehrzahl	-Ernte (Jahr)	Herkunft
Coniferen				
	Pinus strobus	24	1966	1
Lauch	Allium porrum Carentan	32	1966	2
Weizen	Triticum monococcum	14	1966	3
	flav.			
	Triticum durum Capelli	28	1966	4
	Triticum durum Capeiti	28	1966	4
	Triticum aestivum Perso	42	1965	5
	Triticum aestivum	42	1966	6
	Bastard II			
	Triticum aestivum	42	1965	7
	Walthari			
Roggen	Secale cereale Hell-			
	korn	14	1965	5
Gerste	Hordeum vulgare	14	1965	5
Hafer	Avena sativa	42	1965	5
Mais	Zea mays Asilo Pioneer	20	1965	8
	396			
Kürbis	Curcubita pepo	40	1966	9
Rübsen	Brassica campestris	20	1969	9
Reis	Oryza sativa Bellila	24	1969	10
Hefe	Saccharomyces cerevis	30	-	11

- 1 Fa. Conrad Appel, Darmstadt
- 2 Fa. Flora Sämereien, Solingen-Foche
- 3 Dr. F. Wienhues, MPI für Züchtungsforschung,
Köln-Vogelsang
- 4 Dr. Bozini, Nucleas studies Center, Rom, Italien
- 5 Dr. Lein, Klein-Wanslebener Saatzucht, Einbeck
- 6 W. Rimpau, Saatzucht, Domäne Voldagsen üB.Kreienzen
- 7 Lang-Dörfler, Saatzucht, Oberstraubling/Opf.
- 8 Dr. Domes, Bot. Institut, Universität Gießen
- 9 Dr. Schuster, Institut f. Pflanzenzüchtung,
Universität Gießen
- 10 Dr. Bertolino, Institut für Reisanbau, Vercelli/Italien
- 11 Prof. Laskowski, Institut für Biophysik,
Freie Universität Berlin

Für die Überlassung des Saatgutes möchte ich besonders danken.

2. Kulturbedingungen und Standardbehandlung

Für die beschriebenen Versuche sind die ursprünglich von Ebert und Barber (1961) angegebenen Versuchsbedingungen in einigen Punkten modifiziert worden. Einzelheiten darüber sind von Kiefer (1965) und in meiner Diplomarbeit (1968) erwähnt. Das folgende Schema zeigt die für die Experimente eingehaltene Standardbehandlung.

Schema der Standardbehandlung der Samen und Keimpflänzchen:

Verlesen der Karyopsen und Samen in Größenklassen

↓
Auslegen der Samen auf befeuchtetes Filterpapier, Quellen und Ankeimen in Kulturtanks bei 19°C (während dieser Phase wurde 1-2 h Tageslicht zur evtl. Keiminduktion gegeben)

↓
Nach 36-72 h Keimzeit Aufsetzen der Keimpflanzen auf Plexiglasplatten, die mit feuchtem Filterpapier bedeckt waren, und Angleichung im Kulturtank (Abb.4) für weitere 24-48 h, bis die Wurzeln eine Länge von 2-4 cm erreicht haben.

- ↓
- a) Fixation der Wurzelspitzen und histologisches Aufarbeiten zu Präparaten zur Messung von DNS-Gehalt und Kerngröße
 - b) Behandlung mit Colchecin oder ³H-Thymidin zur Bestimmung der Mitosezykluszeit (Seibold, 1968)
 - c) Abnehmen der Samen zur Kurzzeitbestrahlung; wieder Aufsetzen auf Filterpapier; tägl. Längenzunahme registrieren über 8-14 Tage
 - d) Keimpflänzchen auf Filterpapier und auf PVC-Platten aufsetzen zur Dauerbestrahlung im Kulturtank; tägl. Unterbrechung der Bestrahlung für 20' zur Registrierung der tägl. Längenzunahme - Dauer der Bestrahlung: 8 - 1 1/4 Tage

Die Samen werden von Hand verlesen und die größten zu den Versuchen benutzt. Damit sind statistische Abweichungen bezüglich der Gesamtlänge und der Konstanz des täglichen Zuwachses der Wurzel, wie sie sich aus dem unterschiedlichen Nährstoffvorrat ergeben, weitgehend ausgeschlossen. Eine daraus resultierende physiologische Veränderung der untersuchten Parameter wird für die vorliegenden Pflanzenarten nicht angegeben.

Während der Quellungszeit, der Keimphase und auch im Anschluß daran werden die Samen und Pflanzen bei $19^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ in abgedunkelten Kulturtanks gehalten. Nur im Verlauf des 1. Tages nach der Quellungsphase werden die Samen für eine evtl. Keiminduktion 1-2 h dem Tageslicht ausgesetzt.

Danach werden die Keimpflanzen auf befeuchtetes Filterpapier auf Glas- oder Plexiglasplatten aufgesetzt und weiter in den Kulturbehältern belassen. Abb. 4a erläutert das Prinzip. Die Versorgung der Pflanzen mit Wasser erfolgt über die Saugwirkung des Filterpapiers, das bis in das Wasser am Boden reicht. Dadurch herrscht, mit Ausnahme der kurzzeitigen Unterbrechung zur Bestrahlung und Markierung der täglichen Längenzunahme, immer eine mit Wasserdampf gesättigte Atmosphäre. Im Kulturtank wird die Temperatur über einen Thermostaten für die Dauer eines Versuches (8-14 Tage) bei $19^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ gehalten.

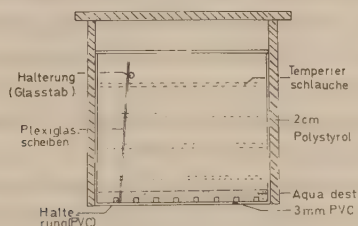


Abb. 4a: Anordnung der Pflanzen im thermostatisierten Kulturgefäß nach Einzelbestrahlung

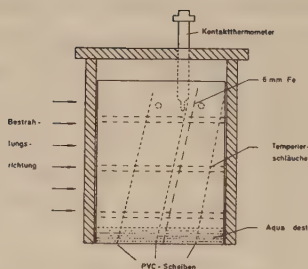


Abb. 4b: Anordnung der Pflanzen im thermostatisierten Kulturgefäß unter Dauerbestrahlung

Um einem vermuteten Mangel an Spurenelementen entgegenzuwirken, wurde täglich Nährlösung (Zusammensetzung in Tabelle II) im Überschuß zugegeben.

Tabelle II: Zusammensetzung der verwendeten Nährlösung der Spurenelemente (n.Burström, 1959)

KH_2PO_4	1/2500	mol
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1/2500	mol
MgSO_4	1/10000	mol
Na_2SO_4	1/10000	mol
Titriplex III	10^{-6}	mol
FeCl_2	10^{-6}	mol
Thiamin	0,1	mg/l
Pyridoxin	0,5	mg/l

Eine kritische Bemerkung muß hier noch zur Wahl der Temperatur gemacht werden. Eine Abhängigkeit der Strahlenschädigung von der Temperatur ist für Makromoleküle, Einzelzellen und für ganze Organismen bekannt. Die Ergebnisse sind jedoch nicht einheitlich. In vielen Fällen, vor allem bei Makromolekülen und Enzymen, nimmt mit sinkender Bestrahlungstemperatur die Strahlenempfindlichkeit ab. Diese als Temperatur-Effekt bekannte Tatsache ist für die vorliegende Arbeit ohne Bedeutung, da

während der Bestrahlung die Temperatur weitgehend konstant gehalten wurde. Dagegen ist aus der Literatur bekannt, daß Temperaturveränderungen vor oder nach Bestrahlung enzymatisch gesteuerte Stoffwechselprozesse verändern und so die Strahlenwirkung modifizieren. Damit werden aber die hier in dieser Arbeit untersuchten Parameter in die Diskussion über die optimale Kulturtemperatur mit einbezogen. Es erhebt sich die Frage, ob bei der gewählten Temperatur von 19°C die Reaktion auf die Bestrahlung, sicherlich über Kerngröße, Mitosezykluszeit und DNS-Funktion gekoppelt, für alle Arten gleich ist. Diese Frage wurde im Rahmen dieser Arbeit experimentell nicht geprüft. Dagegen waren zwei Forderungen für Durchführung und Auswertung der Experimente entscheidend, die bei der angegebenen Temperatur für alle Arten erfüllt werden konnten:

1. eine über mehrere Tage sich erstreckende Konstanz des täglichen Wachstums,
2. ein pro Tag genügend großer, meßbarer Längenzuwachs der Wurzel.

3. Bestrahlungsbedingungen und Dosimetrie

a) Kurzzeitbestrahlung

Ein Teil der Kurzzeitbestrahlungen wurde mit einer Müller-Röntgenröhre MöD 150/Be bzw. 151/Be, betrieben mit einem Hochspannungsgenerator (MG 150), durchgeführt. Die Spannung betrug 150 kV, Strom 11,5 mA, die Dosisleistung entsprechend der Filterung und dem Abstand zwischen 50-70 R/min, bei höheren Dosen im Krad-Bereich 165 R/min. Als Filter wurden 1 mm Cu und 1 mm Al, 0,4 mm Cu und 0,1 mm Al oder 0,1 mm Cu und 0,1 mm Al benutzt. Aus räumlichen Gründen mußte ein Teil der Einzelbestrahlungen mit einer Siemens Dermopan-Röhre durchgeführt werden. In diesem Fall betrug die Spannung 50 kV, der Strom 25 mA und die Dosisleistung bei 1 mm Al-Filterung 80 R pro min bei 30 cm Abstand.

Eine Abschätzung der physikalischen Daten läßt den Einsatz beider Röhrentypen sowohl zur Einzeit- als auch zur Dauerbestrahlung zu. Es kann unter Berücksichtigung der Werte für den "linearen Energie-Transfer" (linear energy transfer = LET), die von Gray (1947) für 150 kV Röhrenspannung mit 3,4 keV/ μ und für 50 kV mit 3,1 keV/ μ angegeben sind, die Änderung der relativen biologischen Effektivität (RBE) vernachlässigt werden. Ferner sind bei der angegebenen Filterung die Unterschiede in der Strahlenhärte gering, so daß auch diesbezüglich die RBE nicht die experimentellen Daten verfälscht. Das gleiche gilt auch für die Dauerbestrahlung, bei der die Dosisleistung ebenfalls durch entsprechende Filter eingestellt wurde.

Die Dosimetrie wurde mit einem Siemens-, Philips- oder PTW-Duplex-Dosimeter durchgeführt. Zur exakten Bestimmung der Dosis wurde die Eisen-Sulfat-Methode nach Fricke benutzt (Fricke und Morse, 1927). Die entsprechende Dosis kann über einen eingebauten Vorwählzähler eingestellt werden, der nach Erreichen der Dosis die Röhre abschaltet. Die angezeigten relativen Dosiswerte stimmten innerhalb der Fehlergrenzen ($\pm$ 5%) mit entsprechenden Eichwerten der Eisen-Sulfat-Dosimetrie nach Fricke überein.

Die Anordnung zur Bestrahlung der Keimpflanzen (Abb. 5a u. b) war für beide Röhrentypen gleich. Dabei wurden die Wurzeln in einem "Bestrahlungsteller" zentral um die Ionisationskammer angeordnet, und die für eine Dosis notwendige Zahl (20-40) von Pflanzen konnte gleichzeitig bestrahlt werden. Die Ionisationskammer wurde dabei im Mittelpunkt des Bestrahlungsfeldes in gleichem Abstand zum Austrittsfenster wie die Wurzeln reproduzierbar befestigt. Der experimentell bedingte Zeitaufwand kann dabei auf ein Minimum reduziert werden, und Einflüsse anderer Art (z.B. Temperaturschwankungen, Lichteinwirkung, Feuchtigkeitsänderung) sind deshalb nicht zu erwarten.



Abb. 5a Bestrahlungsanordnung

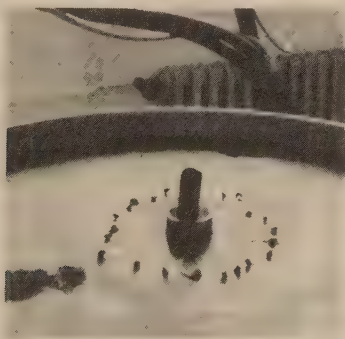


Abb. 5b Anordnung der Keimpflanzen zur Bestrahlung

b) Dauerbestrahlung

Für die Dauerbestrahlung wurden die von Kiefer (1965) angegebenen Versuchsbedingungen im wesentlichen übernommen. Bestrahlt wurde mit einer Siemens-Dermopan-Röhre (50 kV, 23 mA). Zur Stabilisierung gegen Netzschwankungen war ein Magnetstabilisator vorgeschaltet. Die Ausgangsdosisleistung wurde mit Al-Filtern eingestellt. In den Bestrahlungstanks (Abb. 4b) wurden bis zu 5 Platten mit je 15 - 20 Pflanzen im Abstand von 1,5m vom Austrittsfenster der Röhre untergebracht. In dieser Entfernung war die Dosisleistung über die Fläche der Platten konstant. Unterschiedliche Dosisleistungen (R/h) ergaben sich für die einzelnen Plattengruppen durch die jeweilige Abschwächung der Platte. Auf der 5. Platte befanden sich, durch 4 mm Fe- und Cu-Blech abgeschirmt, die Kontrollen. Die Dosisleistung variierte von 2-50 R/h. Somit konnte eine gute Anpassung der Dosisleistung an die jeweilige Zykluszeit der Meristemzellen erreicht werden.

Die Bestrahlungsmethode, wie sie hier beschrieben wird, weicht mit wenigen Ausnahmen (Hall, 1963; Van't Hof, 1963) erheblich von den Anordnungen und Bedingungen ab, wie sie bei einer Dauerbestrahlung im Gammafeld herrschen (Sparrow und Miksche, 1961). Außerdem wurden die so Werte vorwiegend an älteren ergrüntten Pflanzen gewonnen.

Auch bei den Kurzzeitbestrahlungen wurden viele Daten an älteren Pflanzen aus der Wachstumsphase ermittelt. Dabei erstreckten sich die Beobachtungen oft über Wochen und Monate. Eine Relation zur Strahlenempfindlichkeit der einzelnen Zellen, wie sie hier angestrebt wird, scheint daher wegen einer Reihe interferierender Regelmechanismen schwierig. Daher ist eine Methode, bei der die Überlebensfraktion der meristematischen Zellen sowohl nach Dauer-, als auch nach Einzelbestrahlungen

unter konstanten Bedingungen mit Hilfe eines mathematischen Modells ermittelt werden kann, zum Studium der eingangs erwähnten Parameter besser geeignet. Einzelheiten und sich daraus ergebende Unterschiede werden in den entsprechenden Abschnitten noch ausführlich diskutiert.

Erst in den letzten Jahren war es möglich, Überlebenskurven von pflanzlichen Einzelzellen (Zellen der Staubblatthaare von *Tradescantia*) zu erhalten (Nayar und A.H. Sparrow und Ischikawa und A.H. Sparrow, 1967), die sich mit Überlebenskurven ^{von} ~~Einzellern~~ vergleichen lassen.

4. Bestimmung der zellulären Parameter

Einzelheiten zur Bestimmung des Kernvolumens, des Desoxyribonukleinsäure-Gehaltes und der Mitosezykluszeit der Wurzelmeristemzellen sowie die daraus resultierenden Abhängigkeiten wurden in meiner Diplomarbeit (Seibold, 1968) ausführlich diskutiert. Hier sollen nur die experimentellen Schritte angegeben und die Beziehung zwischen den cytologischen Größen kurz aufgezeigt werden.

a) Bestimmung des Interphasekernvolumens

Die Wurzelspitzen wurden in Osmiumtetroxyd (2 Be La Cour) fixiert, mit einem Gefriermikrotom geschnitten und mit Safranin (Kernfärbung) und Lichtgrün (Plasmagegenfärbung) angefärbt. Zur Volumenbestimmung wurde mit dem Okularmikrometer jeweils der größte und der kleinste Durchmesser des Zellkerns gemessen und ein mittlerer Radius bestimmt. Das Kernvolumen wurde daraus unter Annahme der Kugelform nach

$$V_2 = \frac{4}{3} \pi r^3$$

berechnet.

Eine statistische Verteilung der Kerngrößen aus verschiedenen Phasen des Zellzyklus ($G_1 = C; S, c$ bis $2c; G_2, 2c;$) zur Ermittlung des mittleren Kernvolumens läßt sich infolge der Anordnung der Zellen in Reihen leicht erreichen. Dazu werden Interphase-Zellkerne aus Plerom und Periblem ausgemessen, die jeweils zwischen zwei Mitostadien liegen (Abb. 3). Die Ergebnisse sind in Tab.III und in Abb. 6 angegeben.

b) DNS - Bestimmung

Der DNS-Gehalt der Interphasekerne wurde zytophotometrisch mit einem Zeiss-Universal-Mikrospektralphotometer (UMSP I) bestimmt (Casperson, 1936; Sandritter, 1965; Hale, 1966). Dazu wurden die Wurzelspitzen in Alkohol-Eisessig (1:3) fixiert und Quetschpräparate angefertigt. Die anschließende Hydrolysezeit betrug bei $60^\circ C$ 10 min in $n-HCl$, und die Feulgenfärbung dauerte 24 h. Dabei wurden für die Präparate von allen Pflanzen gleiche Hydrolyse- und Färbezeiten eingehalten, um vergleichbare Werte zu erhalten. Nach neueren Untersuchungen von Swift (1955), Böhm und Sandritter (1965) und Wimber (1969) scheinen jedoch für maximale Feulgenreaktionen bei verschiedenen Pflanzenzellen unterschiedliche Hydrolysezeiten erforderlich zu sein. Daraus resultieren evtl. kleine Abweichungen gegenüber Literaturwerten, die aber für die Darstellung der Ergebnisse sicher vernachlässigt werden können.

Bei der zytophotometrischen Methode der DNS-Bestimmung werden die Extinktionswerte der quantitativ spezifisch angefärbten Chromatinbereiche des Zellkerns in sehr kleinen Feldern ($0,5 \mu$ Durchmesser) im Zellkern erfaßt, über die Gesamtfläche integriert und in relativen Werten (A.E. = Arbeitseinheiten) angegeben.

Zur Ermittlung der absoluten DNS-Menge pro Zellkern der einzelnen Pflanzenarten wurde der von Miksche (1967)

für *Pinus strobus* gemessene Wert von $84,0 \times 10^{-12}$ g DNS/Zelle als Bezugswert benutzt.

Die Ergebnisse der DNS-Bestimmung sind ebenfalls in Tab. III und in Abb. 6 angegeben. +)

Wie aus Abb. 6 ersichtlich, sind DNS-Gehalt und Kerngröße für diploide Pflanzenzellen direkt miteinander korreliert. Dies wurde auch von anderen Autoren wiederholt gezeigt (Sparrow, 1963; Van't Hof, 1966; Seibold, 1968; Sparrow und Evans, 1961; Sparrow und Miksche, 1961).

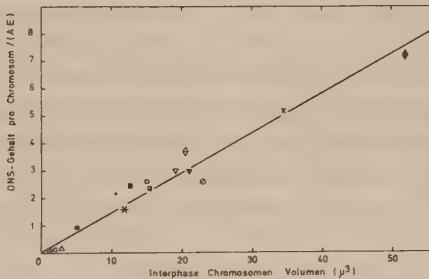


Abb. 6: Korrelation zwischen Interphase-Chromosomen-volumen und DNS-Gehalt pro Chromosom

c) Interphase-Chromosomen-Volumen (ICV)
DNS-Gehalt pro Chromosom

Das Interphase-Chromosomen-Volumen wird berechnet, indem man das Interphase-Kernvolumen durch die der Ploidiestufe entsprechende Chromosomenzahl dividiert:

$$\text{ICV} = \frac{\text{Interphase-Kernvolumen}}{\text{Anzahl der Chromosomen}}$$

Entsprechend wurde die DNS-Menge pro Chromosom berechnet:

$$\text{DNS/Chromosom (A.E.)} = \frac{\text{DNS-Gehalt (A.E.) / Kern}}{\text{Anzahl der Chromosomen}}$$

+) Tabelle III wird auf Seite 96 abgebildet.

Interphase-Chromosomen-Volumen oder DNS-Gehalt pro Chromosom sind demnach hypothetische Werte und nicht auf die Form und Größe der Metaphasechromosomen bezogen. Sie repräsentieren vielmehr den Raum, der in den verschiedenen Phasen des Zellzyklus von einem Chromosom eingenommen werden kann. Da z.Zt. keine klare Vorstellung über Funktion und Form des Chromosoms während der Interphase besteht, kann die Größe des Chromosoms nur durch diese formale Angabe charakterisiert werden. Diese Annahme läßt sich allerdings durch eine Reihe von Beweisen stützen (Pollister, 1952; Grundmann, 1964; Tschermak-Woess, 1962; Geitler, 1938). Sie basieren alle mehr oder weniger auf licht- und elektronenoptischen Untersuchungen, die, mit Ausnahme des Nukleolarbereiches, eine homogene Verteilung des Chromatins zeigen und vor allem keine freien Kernräume bei meristematischen Pflanzenzellen erkennen lassen. Eu- und heterochromatische Bereiche werden als unterschiedliche Funktionsformen des Chromatins dargestellt (Kaufmann et al., 1960; Heitz, 1929). Bei der Bestimmung der DNS-Menge pro Zelle werden die Nukleolarbereiche nicht miteinfaßt, und die Meßwerte entsprechen innerhalb der Fehlergrenzen den biochemisch bestimmten Werten. Verschiedentlich wurde jedoch gezeigt, daß, entsprechend seiner physiologischen Aktivität, der Zellkern verschiedene Größen annehmen kann (z.B. Tagesrhythmik bei Pflanzen, die dem Licht-Dunkelwechsel ausgesetzt sind; Temperatur; ruhende oder aktiv sich teilende Zellen etc.).

Sie beruhen nach Angaben von Grundmann (1964) in einer Volumenvergrößerung durch H_2O -Aufnahme. Für konstante experimentelle Bedingungen, wie sie bei dieser Arbeit gegeben waren, können diese Schwankungen nicht erwartet werden und sind bei einer Korrelation der Ergebnisse zu vernachlässigen. Bei der Diskussion zum Vergleich der Wirkung der Röntgenstrahlen auf das ICV oder den DNS-Gehalt als Bezugsgröße wird jedoch nochmals darauf einzugehen sein, da der Wassergehalt des Zellkerns

in Zusammenhang mit den Inaktivierungsmechanismen zu sehen ist.

Ein weiterer Einwand zur Berechnung obiger Parameter, nämlich der der individuellen Chromosomengröße im haploiden Chromosomensatz, kann für die geprüften Pflanzenzellen unberücksichtigt bleiben, da weitgehend gleichgroße Chromosomen bei den einzelnen Pflanzenarten vorliegen.

Zwischen DNS-Gehalt pro Chromosom und dem Chromosomenvolumen besteht ein linearer Zusammenhang, dessen Konsequenz noch im Abschnitt VI diskutiert wird (Abb.6).

d) Bestimmung der Mitosezykluszeit

Aus der großen Zahl der Arbeiten, in denen Zusammenhänge zwischen der Mitosezykluszeit und der Wirkung ionisierender Strahlen auf Zellen und Zellsysteme untersucht wurden, kann man zwei Kriterien zur Beurteilung ableiten.

Einmal wird die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit der Zellen aus verschiedenen Phasen des Zellzyklus (Terasima und Tolmach, 1963) diskutiert, zum anderen wird die Dauer der Zykluszeit und deren Veränderung (Evans, 1965; Pohlit, 1966) auf Zellen und Zellsysteme untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit kann der erste Gesichtspunkt unberücksichtigt bleiben, da er vorwiegend für synchrone Zellpopulationen zu beobachten ist. Bei den experimentellen Bedingungen dieser Untersuchungen liegt die Gesamtheit der teilungsfähigen Zellen des Wurzelmeristems als asynchrone Population vor. Der Teil der in G_1 arretierten Zellen im "quiescent center" ist gering. Demgegenüber muß für die Beurteilung der Wachstumskurven und die Berechnung des Anteils überlebender Zellen die Zykluszeit bekannt sein und berücksichtigt werden (Kiefer, 1965; Gray und Scholes, 1951).

Bei der Beurteilung der Ergebnisse der Dauerbestrahlungsversuche spielt darüber hinaus die Zykluszeit eine Rolle, da mit zunehmender Zykluszeitdauer die pro Zelle absorbierte Energie bei konstanter Dosisleistung ansteigt (Hall, 1963). Die Mitosezykluszeiten (Tab.III, Spalte 2) wurden teilweise durch eigene Experimente bestimmt und teilweise aus Literaturangaben - sie sind in obiger Tabelle genannt - ergänzt. Zur Bestimmung der Mitosezykluszeit wurde eine von Kiefer (1965) aufgezeigte Methode der doppelten Colchicinbehandlung der Meristemzellen benutzt. Einzelheiten sind in meiner Diplomarbeit angegeben.

Die Abb. 7 zeigt in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Van't Hof, 1963, 1966, 1969; Baetcke et al. 1967) eine lineare Beziehung zwischen Kernvolumen bzw. Chromosomenvolumen und Mitosezykluszeit. Für die Pflanzenarten *Brassica campestris* und *Oryza sativa* wurde diese Relation zur Bestimmung der Zykluszeit benutzt.

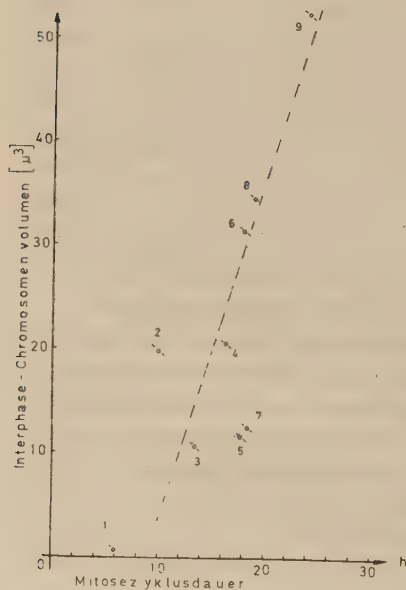


Abb. 7. Abhängigkeit zwischen Mitosezykluszeit und Interphase-Chromosomen-Volumen:

1. Cucurbita pepo
2. Triticum durum Capiti
3. Avena sativa
4. Secale cereale
5. Hordeum vulgare
6. Vicia faba
7. Triticum macha
8. Allium porrum (Miksche, 1967)
9. Pinus strobus (Miksche, 1967)

IV. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse der Kurzzeitbestrahlung

a) Parameter der Strahlenschädigung

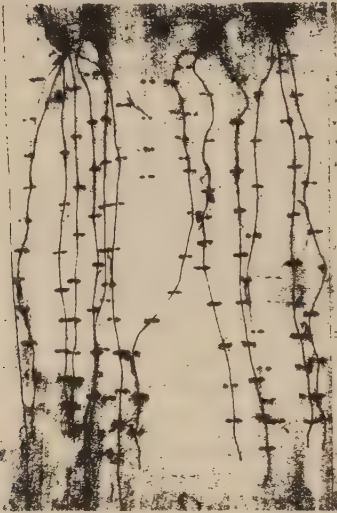
In vielen Experimenten wurden Pflanzen oder pflanzliche Zellsysteme zum Studium der Wirkung ionisierender Strahlen benutzt. Generell kann, von wenigen Ausnahmen abgesehen (Kuzin, 1956, 1964; Feldmann, 1968, 1969; Sax, 1963; Glubrecht, 1965), eine Schädigung des untersuchten Systems festgestellt werden. Dabei erwies sich die Wachstumsdepression als ein sehr signifikanter Parameter, unabhängig davon, ob ganze Pflanzen oder Teile davon untersucht wurden. Aus den in Abschnitt III,1 genannten Gründen wurde in dieser Untersuchung die strahleninduzierte Veränderung der täglichen Längenzunahme der Pflanzenwurzeln beobachtet, die makroskopisch gemessen werden kann. Für die Darstellung dieses Verhaltens wurde die relative Wachstumsrate⁺) über die Zeit nach der Bestrahlung ermittelt und aufgetragen. Sie ergibt sich als Quotient aus der täglichen Längenzunahme der bestrahlten Wurzeln (mm) und der Längenzunahme der unbestrahlten Wurzeln (mm) gleichen Alters.

Hall et al. (1961) sowie Kiefer (1965) diskutieren diese Art der Auftragung ausführlich und zeigen ihre Berechtigung auf. Sie resultiert aus der Tatsache, daß die relative Wachstumsrate das Teilungsverhalten der Wurzelmeristemzellen widerspiegelt, wobei die Länge der Zellzykluszeit mit berücksichtigt wird.

Eine andere Relation, nämlich die zur Gesamtlänge der Wurzeln, führt zu qualitativen Unterschieden bezüglich der Überlebenskurven.

$$^+) \text{ rel. Wachstumsrate} = \frac{\text{tägl. Längenzunahme (mm) der bestrahlten Wurzeln}}{\text{tägl. Längenzunahme (mm) der Kontrollen}}$$

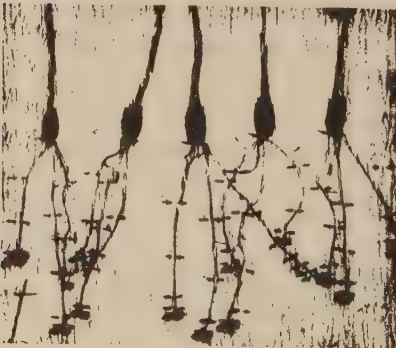
In den Abbildungen 8a - 8p sind für die in der Tabelle III genannten Pflanzenarten die relativen Wachstumsraten aufgetragen. Sie zeigen generell ein ähnliches Verhalten. Man erkennt, daß die relativen Wachstumsraten bei nicht zu hohen Dosen sofort oder nach einer kurzen Latenzzeit auf ein Minimum absinken, um dann wieder auf den Kontrollwert oder gar darüber anzusteigen. Das Minimum der relativen Wachstumsrate ist dosisabhängig.



Kontrollen



300 rad



letal Dosis

Abb.8: Wurzel

Längenzunahme der
Kontrollen und der
bestrahlten Wurzeln
mit täglicher
Längenmarkierung

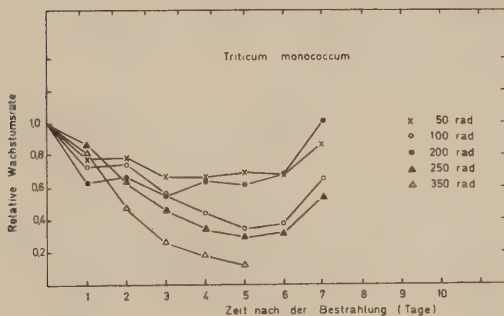
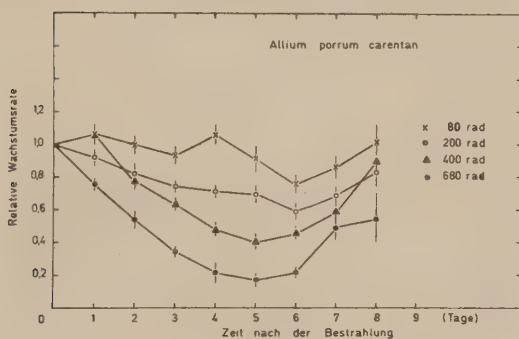
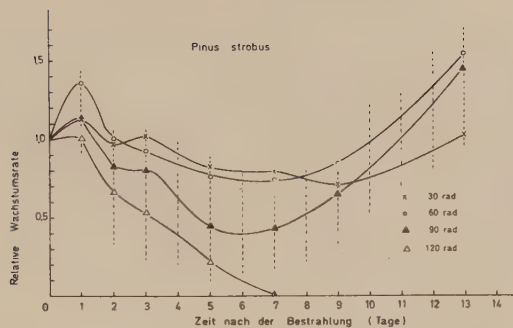
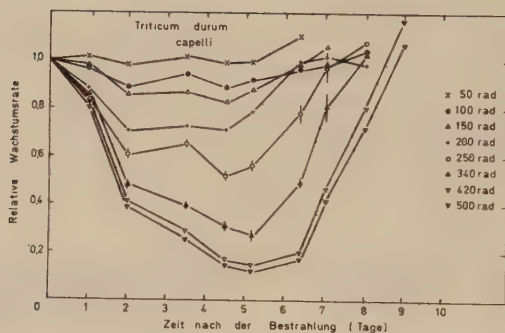


Abb. 8a -8p: Relative Längenzunahme der bestrahlten Wurzeln in Abhängigkeit von der Zeit nach der Bestrahlung.

Die Standardabweichungen wurden nur für wenige Arten eingezeichnet; bei den anderen wurde der besseren Darstellung wegen darauf verzichtet.

In Abb. 8a sind die Zellzyklen eingetragen, um die Werte der rel. Wachstumskurven, die zur Berechnung der Zellüberlebensraten benutzt wurden, zu markieren.



d

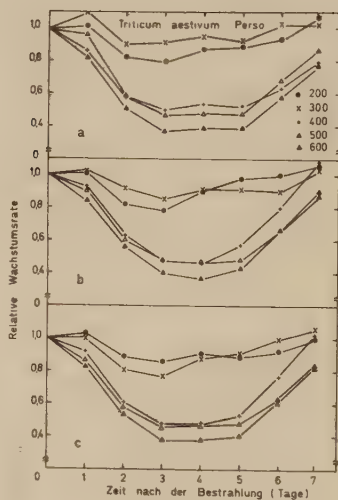
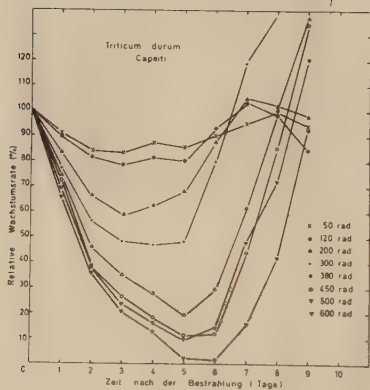
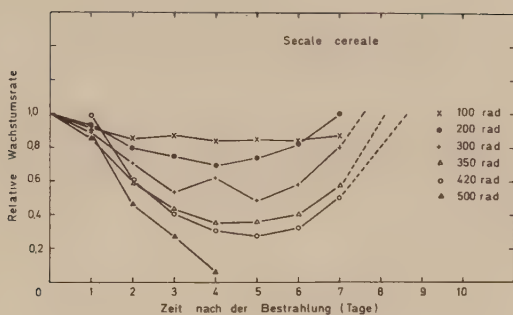
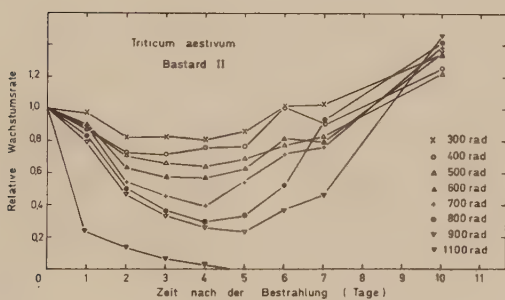


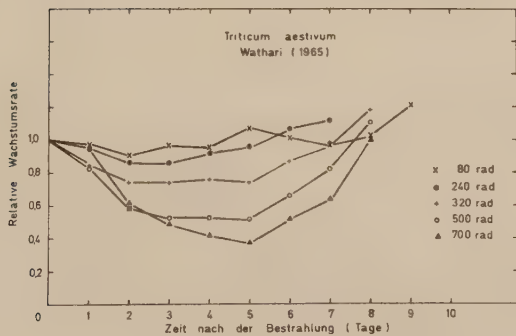
Abb.8f: In Abb. 8f wird für *Triticum aest.* Perso die relative Wachstumsrate für die Primärwurzeln (a), für die Seitenwurzeln (b) und für beide zusammen(c) gezeigt. Dabei ist kein signifikanter Unterschied bezüglich der Reaktion der Zellen festzustellen, unabhängig, ob sie in der Primär-oder Seitenwurzel liegen.



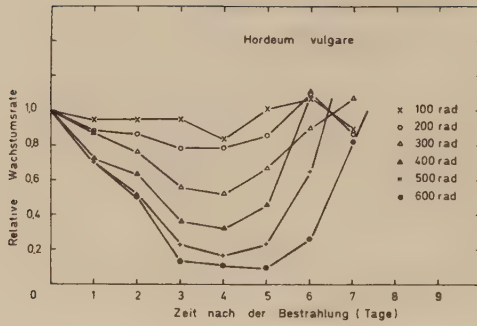
g



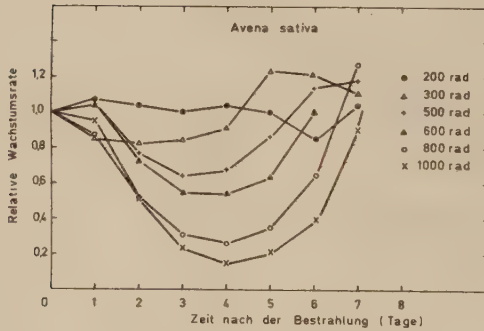
h



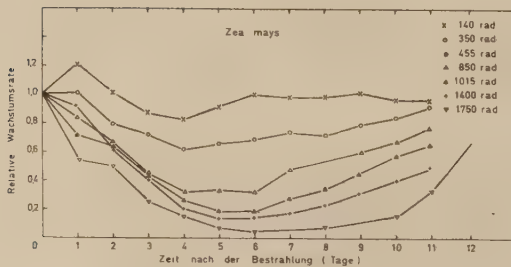
i



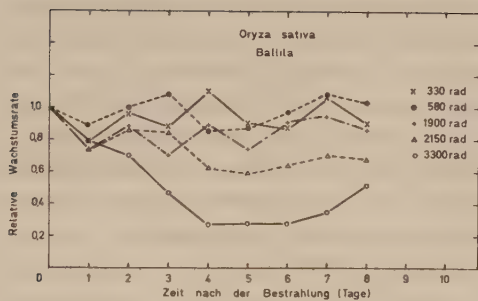
k



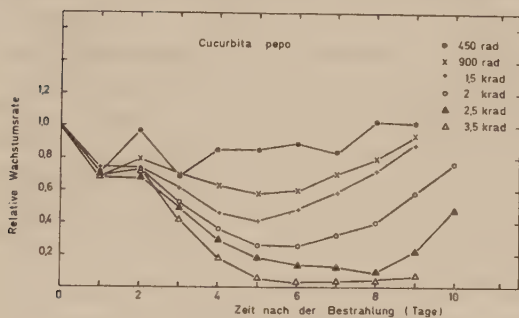
l



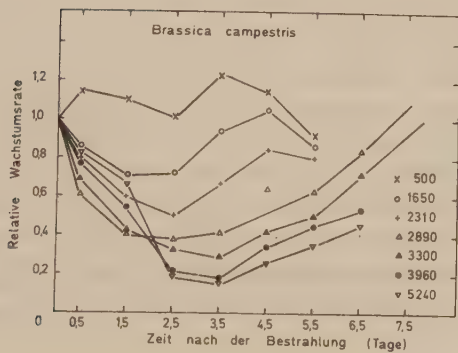
m



n



o



p

Wird die Dosis erhöht, so kommt es zu einem progressiven Abfall der relativen Wachstumsrate bis zu 0 %. Das bedeutet, daß alle beobachteten Wurzeln ihr Wachstum einstellen und makroskopisch sichtbar absterben. Diese Wurzeln bilden innerhalb des Beobachtungszeitpunktes kein neues Meristem und zeigen auch nach längerer Beobachtungszeit kein Wachstum. Die makroskopisch feststellbare Wirkung der Bestrahlung kann schematisch folgendermaßen zusammengefaßt werden: Abfall der Wachstumsrate - Durchlaufen eines Minimums - Erholung.

Nayar und Sparrow (1967) und Ischikawa und Sparrow (1967) zeigen analoge Kurven für das Wachstumsverhalten der Staubblatthaare bestrahlter Infloreszenzen von *Tradescantia blossfeldiana* und T. clone 02. Dabei wurden einmal der Prozentsatz verkümmelter Haare pro Staubblatt, zum anderen die Anzahl der Haarzellen pro Staubblatt und der Zellen pro Staubblatthaar ermittelt. Diese an wenigen oder Einzelzellen gewonnenen Ergebnisse lassen sich mit unseren Versuchen vergleichen und zeigen an einem Zellsystem mit wenigen Zellen (10-22), daß die relative Wachstumsrate tatsächlich das Verhalten der Einzelzellen widerspiegelt. Die reduzierte Längenzunahme wird durch den Ausfall letal geschädigter Zellen verursacht.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen oder zu Versuchen mit Bakterien oder Einzelzellen ist bei der Beurteilung der Strahlenwirkung auf die Zellen des Wurzelmeristems die zelluläre Ebene nicht zugänglich, und Überlebenskurven können nicht direkt angegeben werden.

Man muß sich daher zunächst auf makroskopische Veränderungen und Meßdaten beschränken. Diese wurden wiederholt in der Literatur ad extenso aufgezeigt und ausführlich diskutiert (Motteram, 1935; Gray und Scholes, 1951; Read, 1959; Hall et al. 1962; Kiefer, 1965; Van't Hof und Sparrow, 1965). Drei Parameter sind auf diese Art leicht zu erfassen und wurden auch zur Charakterisierung der Strahlenwirkung bisher benutzt.

1.) Gray und Scholes (1951) und Ebert und Barber (1961) vergleichen die reduzierte Wachstumsrate im Minimum am 6. Tage nach Bestrahlung mit den entsprechenden Kontrollwerten.

2.) Read (1959) benutzt den Quotienten aus der Gesamtlänge der bestrahlten Wurzeln nach 10 Tagen, geteilt durch die Kontrollwerte, zur Angabe einer Dosis-Effekt-Kurve.

3.) Darüber hinaus kann die Anzahl überlebender Wurzeln in Abhängigkeit der Dosen (Kiefer, 1965) zur Angabe der Strahlenwirkung benutzt werden.

Alle drei Parameter sind für Experimente zur Beurteilung relativer Effekte (z.B. Sauerstoffeffekt, Vergleich zweier Strahlenarten, also Ermittlung des RBW-Wertes etc.) recht gut geeignet.

Will man jedoch, wie es Ziel der vorliegenden Untersuchung ist, Aussagen über die Wirkung ionisierender Strahlen auf Einzelzellen und deren Inaktivierung oder Angaben über die Energieabsorption pro Zelle machen, so sind diese Parameter in ihrer Relevanz unbefriedigend in zweierlei Hinsicht: erstens ergeben sie keinen Aufschluß über das Überlebensverhalten der Einzelzellen und zweitens interferieren sie sicher mit Wachstumsprozessen und übergeordneten Regelmechanismen innerhalb der Pflanzewurzel oder der ganzen Pflanze.

Es wäre jedoch zur Darstellung einer Dosiswirkungsbeziehung wünschenswert, exakte Angaben über das Verhalten der einzelnen Zellen nach Bestrahlung machen zu können. Dazu ist man weitgehend auf Modellvorstellungen angewiesen, die das Bestreben haben, auf Grund von kinetischen Studien auf endogene Mechanismen zu schließen. So wurden in letzter Zeit Aussagen über das Verhalten der Wurzelmeristemzellen von *Vicia* (Hall und Lajtha, 1962), *Tradescantia* (Van't Hof und Sparrow, 1965) und Gerste (Kiefer, 1965) nach Bestrahlung gemacht. Für die Berechnung des Anteils überlebender Zellen des Wurzel-

meristems wurde dieser Arbeit das Modell von Kiefer (1965) zugrunde gelegt. Es erlaubt, sowohl nach Einzeit- als auch nach Dauerbestrahlung, aus dem Wachstumsverhalten der Wurzeln nach Bestrahlung auf den Anteil überlebender Zellen zu schließen. Einzelheiten bezüglich der Regelmechanismen im Meristem sollen nur insoweit kurz diskutiert werden, wie sie zur Erklärung der Dosis-Effekt-Kurven nötig sind.

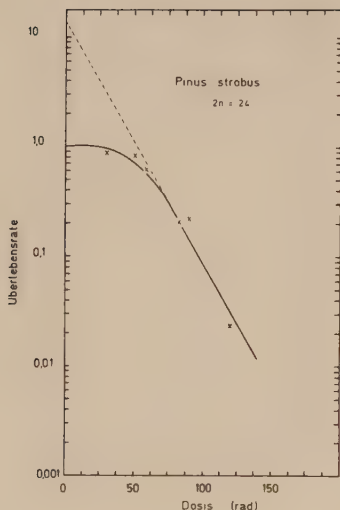
Die zur Berechnung der Überlebensfraktion der Meristemzellen notwendigen Schritte werden im Anhang II, zusammen mit einem Computerprogramm und einigen charakteristischen Daten, aufgezeigt. Daraus wird ersichtlich, daß durch schrittweise Verfolgung der relativen Wachstumsrate nach Bestrahlung über eine Ausscheidefunktion $(1 - k(t))$ die Zellüberlebensfraktion $k(t)$ der Meristemzellen berechnet werden kann. Der Anteil nicht überlebender Zellen $(1 - k(t))$ ist dabei innerhalb der Zeit eines Zellzyklus als konstant anzusehen. Die "Schrittweite" wird durch die jeweilige Mitosezykluszeit (Abb.8a) gegeben.

Obige Ausscheidefunktion trägt dabei der Tatsache Rechnung, daß nach Kurzzeitbestrahlung nicht sofort alle geschädigten Zellen im ersten Teilungszyklus arretiert werden oder absterben. Vielmehr durchlaufen die letal geschädigten Zellen noch einige Zellteilungen, bis es zur genetisch fixierten Teilungshemmung kommt. Der Abfall der Wachstumskurven spiegelt dieses Verhalten wider.

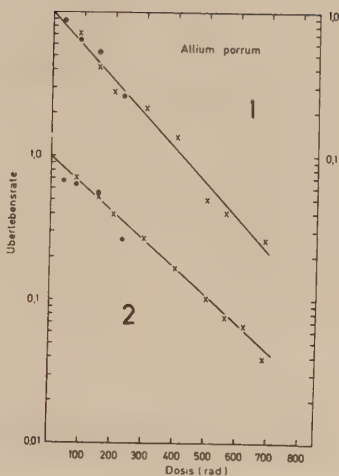
Experimentell wurde die Zykluszeit bestimmt und in die Abzisse der Wachstumskurven eingezeichnet. Die entsprechenden Werte (siehe Abb. 8a für *Pinus strobus*) der relativen Wachstumsraten wurden als Ausgangswerte für die jeweilige Soll-Zellzahl im Meristem zur Berechnung benutzt.

Die so erhaltenen Zellüberlebenskurven sind für alle Arten (insgesamt 16) in den Abb. 9a - n angegeben. Die Werte sind Mittelwerte aus mehreren Experimenten.

a



b



c

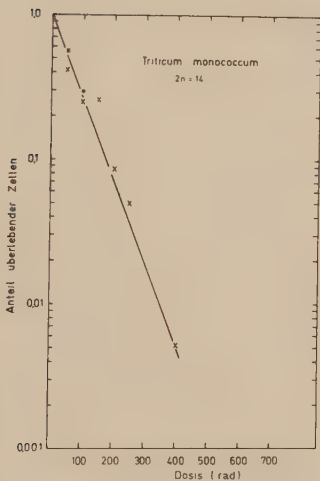
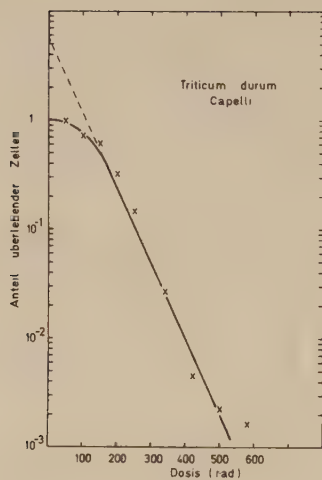
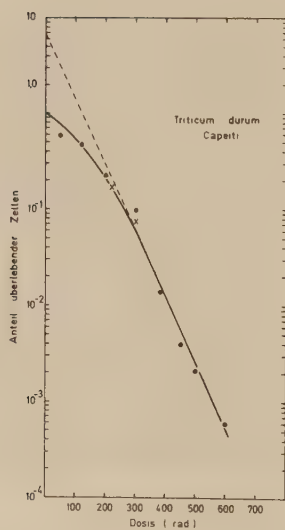


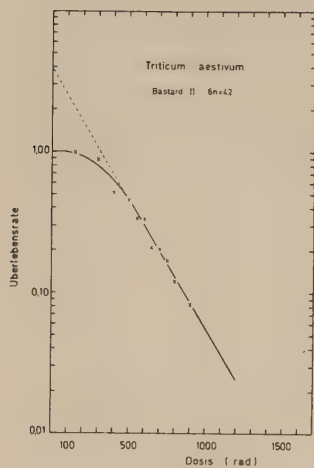
Abb. 9a - 9c: Anteil überlebender Meristemzellen als Funktion der Dosis für die verschiedenen Pflanzenarten. Die Werte wurden aus den rel. Wachstumskurven (Abb. 8) berechnet. Sie repräsentieren teilweise Ergebnisse aus verschiedenen Versuchen, meistens jedoch Werte aus einem Experiment.

In Abb. 9b wurden für *Allium porrum* in 1 die Überlebensraten bis zum Minimum der rel. Wachstumskurve aufgetragen, die untere Überlebenskurve wurde aus den Werten der rel. Wachstumskurve bis zum Ende der Beobachtungszeit berechnet.

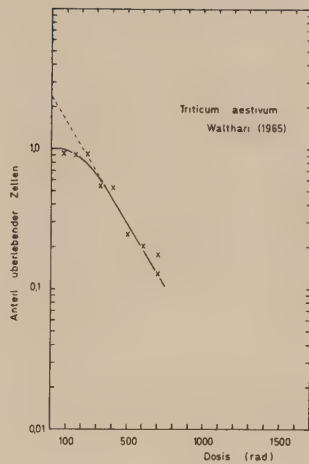


d

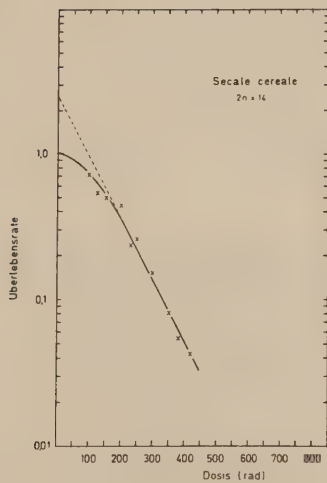




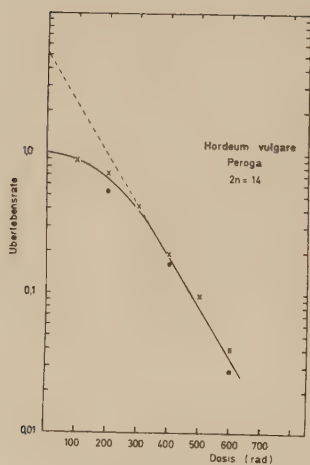
f



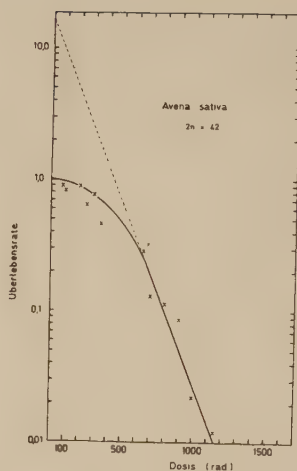
g



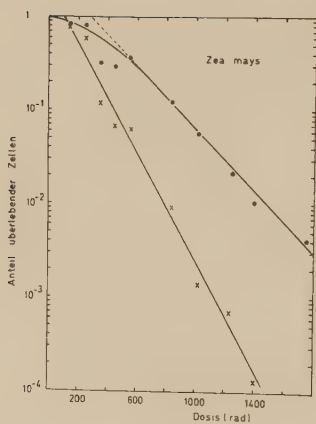
h



i



k

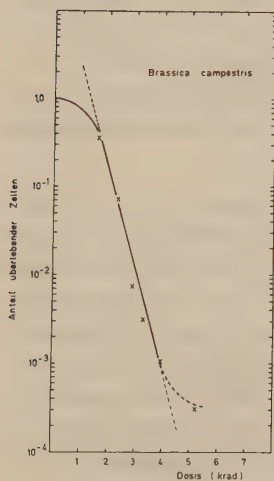
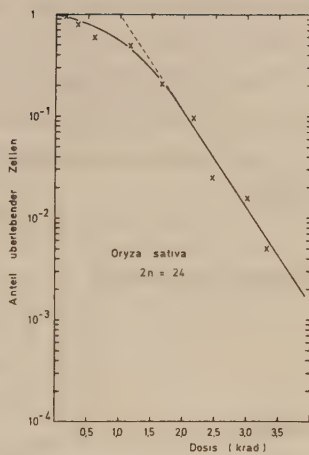
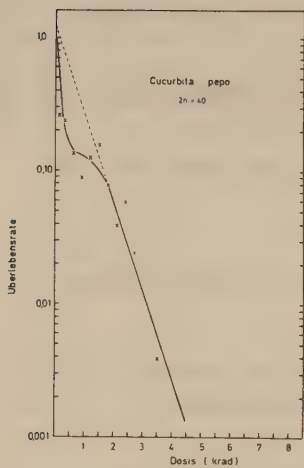


l

Abb. 91 : Berechnete Überlebensrate mit:

x : Zellzykluszeit 10 h

e : Zellzykluszeit 28 h



Mit Ausnahme von *Allium porrum* und *Triticum monococcum* zeigen die Kurven in der halblogarithmischen Darstellung einen Schulterbereich und gehen asymptotisch in einen exponentiellen Teil über.

Der Kurvenverlauf der Dosis-Effekt-Kurve für *Cucurbita pepo* wird gesondert diskutiert.

Die Überlebenskurven lassen sich durch den Ausdruck:

$$\frac{N}{N_0} = 1 - (1 - e^{-\lambda D})^n$$

beschreiben, wobei $\frac{N}{N_0}$ = Anteil überlebender Zellen

D = Dosis

λ = Steigung des linearen Teils

n = Extrapolationszahl

bedeuten.

Der Schnittpunkt der asymptotischen Geraden mit der Ordinaten sei im folgenden (Tab. IV) als Extrapolationszahl (n) bezeichnet (Alper u.a. 1966), um keine treffer-theoretische Interpretation zu geben.

Aus dem exponentiellen Teil der Überlebenskurven wurden die D_0 -Werte (in der deutschen Literatur auch zuweilen mit D_{37}^+ bezeichnet) für die verschiedenen Pflanzenarten bestimmt. Die Werte sind in Tabelle IV Spalte 9 angegeben. Die D_0 entspricht dem Kehrwert der Steigung des exponentiellen Teils der Dosis-Effektkurve (siehe Seite 68).

Die relative Wachstumsrate im Minimum (im folgenden mit $\epsilon_{\min}$ bezeichnet) wurde oft als günstiger Parameter der Strahlenwirkung angesehen. Trägt man ihn als Funktion der Dosis auf, so ergeben sich für alle Pflanzenarten ähnliche Kurven. Der Einfachheit halber sind sie nur für einige Arten in Abb. 10 a-e gezeigt. Sie sind in ihrem Verlauf mit Dosis-Effekt-Kurven von Zellen vergleichbar und zeigen bei nicht zu hohen Dosen über einen bestimmten Dosisbereich eine lineare Abhängigkeit.

Bei höheren Dosen wird der Kurvenverlauf zunehmend flacher, was eine höhere Resistenz des Pflanzenwurzelsystems andeutet (Abb. 10c d, und e). Dieses Verhalten reflektiert offenbar gewebespezifische Reaktionen und zeigt nicht mehr das Verhalten der Einzelzellen an.

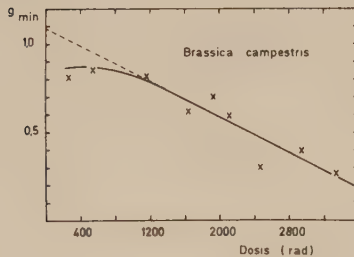
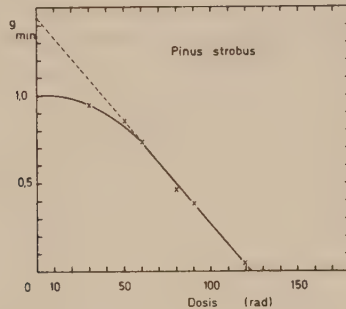


Abb. 10a- 10e: In den Abb. 10a-10e werden für einige Arten die Minima der relativen Wachstums - kurven (Abb.8) (g_{min}) als Funktion der Dosis aufgetragen. Die Dosis, die zu 50% Wachstumsreduktion führt, wird mit $D_{50}(g_{min})$ in Tabelle IV angegeben (Erklärung siehe Text S.46 und S.49).

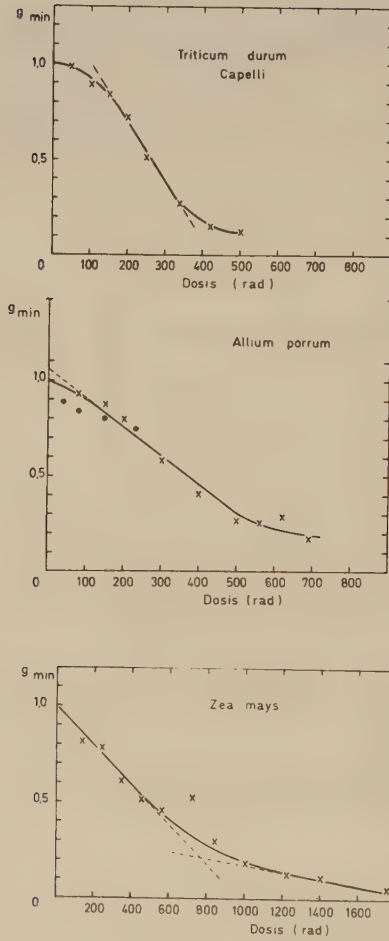


Abb. 10c, 10d und 10e: $g_{\min}$ als Funktion der Dosis für drei verschiedene Pflanzenarten.

Berücksichtigen wir jedoch die Untersuchungen von Clowes (1963) über das Verhalten der Zellen des "quiescent center" nach Bestrahlung, so kann man dieses Abknicken der Kurven einer Neubildung des Meristems durch Zellen des "Ruhezentrums" zuordnen. Diese Zellen haben eine sehr viel längere Zykluszeit und werden vorwiegend in der G_1 -Phase arretiert. Nach Bestrahlung, wenn die Zellen, die sich im normalen "turn over" des Meristems befinden, infolge ihrer Schädigung ausscheiden, werden die Zellen des "Ruhezentrums" mitotisch aktiv, bilden ein neues Wurzelprimordium aus und tragen nach einer bestimmten Regelzeit zum Wurzelwachstum bei. Dieser Beitrag zur Zellproliferation wird erst ersichtlich, wenn das Verhältnis sich aktiv teilender Zellen zu denen des "quiescent center" groß wird, was bei höheren Dosen der Fall ist. Besonders für *Zea mays*, hier kann die aufgezeigte Kurve nahezu in zwei Phasen aufgeteilt werden, wird für das "Ruhezentrum" eine große Zellzahl angegeben (Clowes, 1963, 1965). Der erste Teil der relativen Wachstumskurve resultiert vorwiegend aus dem Ausscheiden der letal geschädigten Zellen, während die zweite Phase das Absterben der gesamten Wurzel andeutet. Bei *Pinus strobus* ist kein "Ruhezentrum" bekannt und ein solcher Einfluß nicht zu erkennen.

Diese Tatsache ist für die Berechnung der Überlebenskurven jedoch von untergeordneter Bedeutung. Außerdem sollte noch vermerkt werden, daß bei höheren Dosen nur wenige Wurzeln die Bestrahlung überleben und folglich zu den Werten der Wachstumskurven beitragen, was sich hinsichtlich der Statistik ungünstig auswirkt.

Die zeitliche Verschiebung des Minimums bei höheren Dosen spiegelt eine große Ausscheiderate meristematischer Zellen wider, die mit der Zykluszeit der Zellzahl im Meristem und der Schädigung der Zellen interferieren.

Die Dosen, die zu 50% Wachstumsdepression führten $D_{50} \epsilon_{min}$, wurden für die einzelnen Arten bestimmt und in Tabelle IV, Spalte 10, angegeben.

Als weiterer Parameter zur Beurteilung der Strahlenempfindlichkeit von Pflanzenwurzeln und deren Meristemzellen, kann die Zahl der Wurzeln ermittelt werden, die innerhalb des Beobachtungszeitraums bei bestimmten Dosen ihr Längenwachstum einstellen. Die Abb. 11 a, b und c zeigen solche Überlebenskurven für drei verschiedene Pflanzenarten.

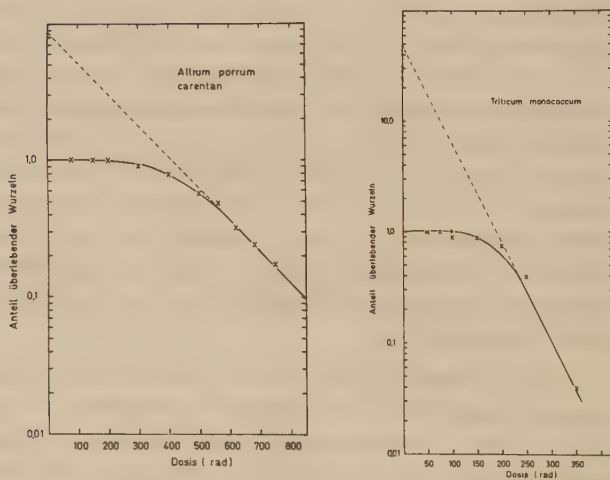


Abb. 11a und 11b: Anteil "überlebender" Pflanzenwurzeln in Abhängigkeit von der Dosis. Für die hier nicht gezeigten Pflanzenarten lassen sich ähnliche Kurven darstellen. Die Dosis, bei der 50% der Pflanzenwurzeln innerhalb des Beobachtungszeitraums ihre weitere Längenzunahme einstellen wurde mit D_{50} (Überlebensrate Wurzeln) in Tabelle IV, Spalte 11 angegeben.

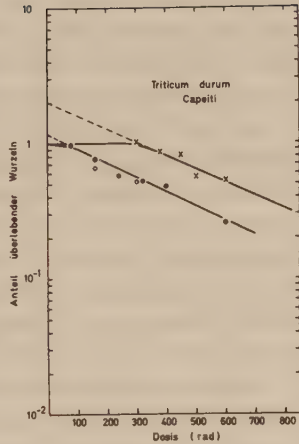
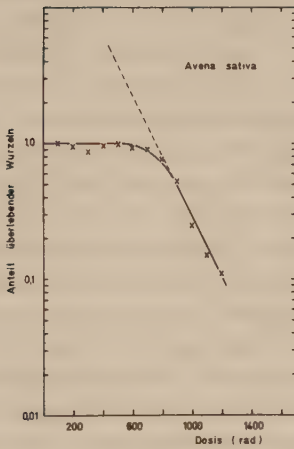


Abb. 11c und 11d: Analog 11a-b; Anteil "überlebender" Pflanzenwurzeln in Abhängigkeit von der Dosis. In Abb. 11d werden für *Triticum durum* Capelli die Ergebnisse aus drei verschiedenen Experimenten gezeigt.

Zum Vergleich der im Abschnitt V diskutierten Korrelationen wurden aus diesen Kurven die Dosen bestimmt, die notwendig sind, um diese Überlebensfraktion auf 50% (D_{50}) zu reduzieren. Die Werte sind in Tab. IV, Spalte 11, angegeben.

b) Diskussion der Wachstumskurven nach Kurzzeitbestrahlung

Die Ergebnisse dieser Arbeit beweisen darüber hinaus, daß es möglich ist, das von J. Kiefer gezeigte Modell zur Berechnung von Zellüberlebensraten nach Bestrahlung für meristematische Zellen von Gerstenwurzeln auch auf Zellen anderer Objekte zu übertragen. Dies ist neu und sollte bezüglich der Histologie und Zelldynamik im Meristem diskutiert werden. Viele der untersuchten Arten sind, wie die Gerste, ebenfalls Gramineen mit einem geschlossenen Histogen. Abweichende Ergebnisse sind deshalb kaum zu erwarten. Pinus st., Vicia f., Curcubita und Brassica hingegen haben jedoch eine völlig andere Anordnung der Initialzell-Gruppen. Wenn sie dennoch einer formalen Beschreibung ihrer Zellkinetik nach Bestrahlung gehorchen, zeigt dies, daß die Initialzellen und ihre Anordnung (ihr Anteil ist sehr klein gegenüber dem Anteil teilungsfähiger Folgezellen) für die Depression des Längenwachstums eine untergeordnete Rolle spielen. Vielmehr deutet dieses allgemeine Verhalten des Wurzelwachstums nach Bestrahlung darauf hin, daß die Schädigung der teilungsfähigen Folgezellen und die Störung evtl. Regelmechanismen von übergeordneter Bedeutung sind. Offenbar sind die Differenzierungsprozesse, die im ungestörten System zum Einstellen der Teilungsfähigkeit und zur Zellstreckung führen, von allgemeiner Art. Sollte dies nicht zutreffen, so müßte man wenigstens für einen Teil der untersuchten Pflanzenarten andere Wachstumskurven finden. Selbstverständlich kann nicht ausgeschlossen werden, daß kleinere Abweichungen bestehen, die aber für die Gültigkeit und die Übertragung der Modellvorstellungen und bei der Berechnung der Überlebensrate vernachlässigt werden können. Dies wird beim Vergleich der Ergebnisse mit anderen Literaturangaben bestätigt.

In diesem Zusammenhang ist noch auf das Verhalten der Zellen sofort nach der Bestrahlung einzugehen. Vergleichen wir die Abb. 8a-p, so kann keine generelle

Aussage über den Verlauf der relativen Wachstumsrate sofort nach Bestrahlung gemacht werden. Bei einigen Arten tritt bei niedrigen Dosen eine kurzzeitige erhöhte Längenzunahme der Wurzeln ein, bei anderen wieder ein sofortiger Abfall der relativen Wachstumsrate. Für alle Arten jedoch lassen sich bei sehr niedrigen Dosen Schwankungen der täglichen Längenzunahmen feststellen. Sie können bezüglich der entsprechenden Kontrollwerte gleichbleibend sein (Abb. 8d, 8e) oder auch abfallen (Abb. 8e). Diese Schwankungen können einer verzögerten Zellteilung "mitotic delay" zugerechnet werden, wie sie gelegentlich auch für Pflanzenzellen angegeben wird (Evans u.a. 1959; Van't Hof, 1963; v. Wangenheim, 1970). Nach Beendigung der Mitoseverzögerung kann es somit zu einer erhöhten Mitoserate kommen. Auf die Zellpopulation bezogen, kommt dieses Verhalten der Zellen einer Teilsynchronisation gleich und äußert sich konsequenter Weise in einer rhythmischen Längenzunahme, die ansteigt oder sogar größer ist als die der Kontrollen. Es zeigt sich, daß auch dieser Effekt mit der zellulären Strahlenempfindlichkeit (siehe nächster Abschnitt) korreliert werden kann. Eine Dosis von 450 rad, die bei Kürbis einen solchen charakteristischen Kurvenverlauf zeigt, würde bei *Triticum durum* Capeiti zu einer Wachstumsdepression von 80% führen.

Bei höheren Dosen kommt es bei allen Arten sofort zu einer reduzierten Längenzunahme. Sie wird im wesentlichen durch eine Verminderung der Zahl teilungsfähiger Zellen im Meristem verursacht. Bei Arten mit einer kurzen Zykluszeit erfolgt dieser Abfall sehr schnell, und das Minimum wird schon am 2. oder 3. Tag erreicht, während die Zellsysteme mit langer Zykluszeit einen allmählichen Abfall zeigen und das Minimum viel später erreichen. *Pinus st.* mit einer Zykluszeit von 24 h erreicht erst am 7. Tage, *T. aest.* mit 18,5 h am 5. Tag und *T.d. Capeiti* mit 10,5 h am 2. Tag das Minimum; Kürbis dagegen erreicht mit 6 h ein erstes Minimum am 1. Tag. Der weitere allmähliche Abfall, bzw. die lange konstante relative Wachstumsrate im Minimum, repräsentiert das Verhalten

eines Meristems mit einer großen Zahl meristematischer Zellen. Da nach wenigen Zellzyklen die Zahl der letal geschädigten Zellen sich nicht mehr erhöht, aber aus geometrischen Gründen die Ausscheiderate konstant bleiben wird, bedeutet dies für Wurzeln mit großen Zellzahlen im Meristem ein langsames Durchlaufen des Minimums und eine allmähliche Repopulation. Bei Meristemen mit geringer Zellzahl genügen wenige Zyklen, um die letal geschädigten Zellen in die Streckungszone abzugeben, und das Minimum der relativen Wachstumsrate wird schnell durchlaufen: die Repopulation setzt schneller ein und ist früher beendet.

In dieser Arbeit wurden Pflanzen mit unterschiedlichen Zellzykluszeiten bestrahlt, so daß die Frage genauer zu untersuchen ist, welcher Einfluß von der Zykluszeit bei der Berechnung der Dosis-Wirkungskurven ausgeht. Dazu wurden aus den relativen Wachstumsraten für *Triticum durum* Capeiti mehrere verschiedene Zykluszeiten (6-36h) als Schrittlänge der Ausscheidefunktion vorgegeben. Die berechneten Kurven sind in Abb. 12 aufgetragen.

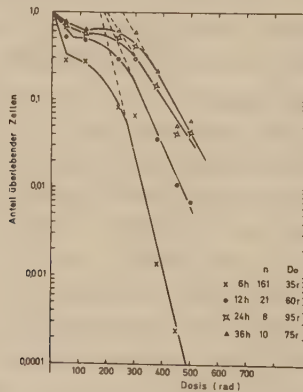


Abb. 12: Einfluß der Mitosezykluszeit auf die Berechnung der Zellüberlebenskurven von *Triticum durum* Capeiti. Die Dosis-Effektkurven wurden aus den gleichen rel. Wachstumskurven gewonnen, wobei zur Berechnung des Anteils überlebender Zellen verschiedene Zykluszeiten eingesetzt wurden. Die gemessene Mitosezykluszeit betrug 10,5 h und ergab eine $D_0 = 62,5$ rad.

Man erkennt, daß mit zunehmender Zykluszeit die Steigung des exponentiellen Teils der Kurve flacher wird. Damit wird die D_0 größer. Da die Bestimmung der Zellzykluszeit für die Meristemzellen einen mittleren Wert aller Zellen des Meristems darstellt, sind kleinere Korrekturen der D_0 -Werte möglich. In der Regel sind die Werte mehrerer Experimente zur Berechnung der Regressionsgeraden der Dosis-Effekt-Kurven benutzt worden, oder die D_0 wurde aus mehreren Einzelergebnisse gemittelt. In Tab. IV, Sp.9 wurden deshalb für die D_0 -Werte die Streubreiten angegeben. Kleine Abweichungen der Mitosezykluszeit sind ohne Einfluß auf die Überlebensrate.

Die Dosis-Effekt-Kurven für Kürbis (Abb.9_n) zeigen zunächst einen sehr steilen Abfall, um dann in einen zweiten, sehr viel weniger steilen, exponentiellen Kurventeil überzugehen. Eine vollkommene Erklärung kann dafür nicht angegeben werden. Als Interpretation ist denkbar, und dies würde sich mit der makroskopischen Beobachtung decken, daß einmal ein Teil der Zellen mit einem anderen Ausscheidemuster abstirbt und ein Restteil von ungefähr 20% der Kinetik folgt, wie sie in oben erwähntem Modell vorgesehen ist. Dies wiederum läßt evtl. auf 2 Zellpopulationen mit unterschiedlichen Zykluszeiten schließen. In der Tat zeigen die bestrahlten Wurzelspitzen ab dem 2. Tag nach der Bestrahlung eine Volumenverringerung des meristematischen Bereichs. Ein Vergleich mit der Abb. 12 zeigt jedoch, daß man diesen schnellen Abfall sehr wohl der kurzen Zykluszeit zuschreiben muß, da das 24-Stundenintervall nicht ausreichend klein genug ist, um einen allmählichen Abfall anzuzeigen. In 24 h würden für eine Zellzykluszeit von 6 h bzw. 10 h bereits 4 bzw. 2 mal Zellen ausgeschieden, wohingegen bei längerer Zykluszeit dieser Effekt nicht auftritt.

Als weiterer Punkt ist die Frage aufzuwerfen, wie lange die Beobachtung auszudehnen ist. Dazu wurden die Überlebenskurven für *Triticum durum* Capeiti (Abb 12+13)

aus den Schritttfolgen der relativen Wachstumsrate bis zu 100 % Erholung berechnet (Abb. 12) und denen gegenüber gestellt, die, aus dem relativen Wachstumsrate über die 100%-Marke hinausgehend, bis zum Endwert nach 10 Tagen berechnen lassen (Abb. 13).

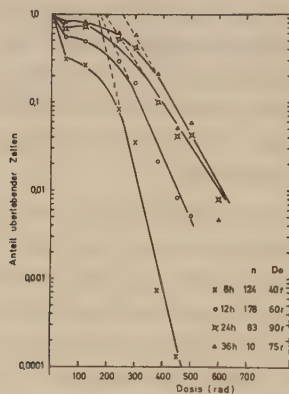


Abb. 13: Einfluß verschieden langer Erholungsphasen auf die Dosis-Effekt-Kurve von *Tritic. durum* Capeiti. In Abb. 12 wurde die Erholungsphase (Wiederanstieg der relativen Wachstumskurve) bis 100 % berücksichtigt. Hier wurde die Berechnung der Überlebensrate aus den Werten der relativen Wachstumsrate bis zum Ende der Beobachtung nach 10 Tagen (Abb. 8 e) durchgeführt.

Es lassen sich hier keine signifikanten Unterschiede nachweisen. Das resultiert einmal aus der geringen Zahl der Wurzeln, die nach 10-12 Tagen noch zum Mittelwert der relativen Wachstumsrate beitragen. Zum anderen sind die Einflüsse eines "overshoots" auf die Berechnung der Überlebenskurven sehr gering. Der größte Teil der letalgeschädigten Zellen wird tatsächlich bis zum Minimum der relativen Wachstumsraten ausgeschieden. Das in der Abb. 8 e gezeigte große Überschwingen muß der Versorgung der Zellen mit Nährstoffen zugeschrieben werden. Da in

der experimentellen Anordnung keine Nährstoffe gegeben werden, wird die Gesamtlänge der Wurzel durch den Nährstoffvorrat des Samenkorns begrenzt. Die bestrahlten Wurzeln verbrauchen offenbar während der strahleninduzierten Wachstumsdepression gegenüber den Kontrollen sehr viel weniger Nährstoffe, die ihnen in der Erholungsphase zur Verfügung stehen. Die Beobachtung wurde daher bis zu dem Zeitpunkt ausgedehnt, an dem die relative Wachstumsrate den Wert 1 erreicht. War dies bei hohen Dosen nicht möglich, so wurden die Kurven extrapoliert und diese entsprechenden Werte zur Berechnung benutzt.

Bei *Triticum durum* Capeiti und Capelli traten nach Bestrahlung wiederholt "Teilungen" des Meristems auf. Die Skizze in Abb. 14 gibt das makroskopische Erscheinungsbild wieder. Aus der Histogenese des Wurzelwachstums ist dies bei Pflanzen mit Scheitelzellenwachstum bekannt und resultiert aus einer antiklinen Teilung der Scheitelzelle. Bei *T. durum* - das Meristem besitzt mehrere Initialzellen - liegt offenbar eine Schädigung dieser Zellen vor, so daß es bei der Reorganisation des Meristems zu zwei getrennten Initialgruppen kommt, die jede für sich weiterwachsen. Aus der Verzweigung des Pleroms geht eindeutig hervor, daß es sich nicht um eine Seitenwurzel handeln kann. Die Zellzahl und das Volumen dieser beiden Wurzelmeristeme sind eindeutig reduziert. Die tägliche Längenzunahme jeder dieser beiden Teilwurzeln ist daher geringer als die der normal wachsenden; beide addiert ergeben jedoch in etwa die gleiche tägliche Längenzunahme. Dieses, nur formal beschriebene, Verhalten bestätigt die Überlegungen und zeigt, daß die Sollzahl im Meristem und die Rate sich differenzierender Zellen direkt mit dem Längenwachstum korreliert sind. Versuche, die reduzierte Wachstumsrate einer strahleninduzierten Veränderung der Zellgrößen zuzuschreiben, führten nicht zum Erfolg. Es wäre ja immerhin denkbar, daß die Zellen, die sich nach der Bestrahlung ausdifferenzieren und zur Zellstreckung kommen, kürzer sind.

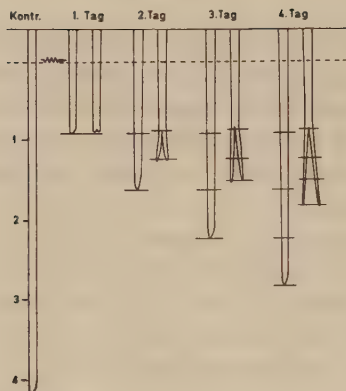


Abb. 14: Schematische Zeichnung zum Verhalten des Meristems bei *Triticum durum* Capelli, bei der im Text besprochenen strahleninduzierten Teilung des Meristems.

Aus methodischen Gründen, es wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht versucht, ist es schwierig, über eine histologische Präparation einen Einfluß der Bestrahlung auf die Zellstreckung zu zeigen. Aus Literaturangaben sind ebenfalls keine Anhaltspunkte für eine strahleninduzierte Veränderung der Zelllängen zu ersehen. Aus Experimenten an *Vicia faba* von Gray und Scholes (1951) - sie zeigten bei 10 kr bei abgedecktem Meristem keine Reduzierung der Längenzunahme - kann ein Einfluß der Bestrahlung auf die Elongation der Zellen ausgeschlossen werden.

2. Kontinuierliche Bestrahlung - Ergebnisse und Diskussion

Die Wachstumsdepression nach kontinuierlicher γ - und Röntgenbestrahlung ist bekannt und auch an Pflanzenwurzeln verschiedentlich gezeigt worden (Van't Hof und Sparrow, 1963; Hall, 1963; Kiefer, 1965). Dabei stimmen die Ergebnisse dieser Untersuchung in ihrem qualitativen Verlauf der Wachstumskurven mit den in der Literatur beschriebenen Resultaten generell für alle untersuchten Arten überein. Die relativen Wachstumskurven werden in

Abb. 15a - 15h für kontinuierliche Röntgenbestrahlung gezeigt.

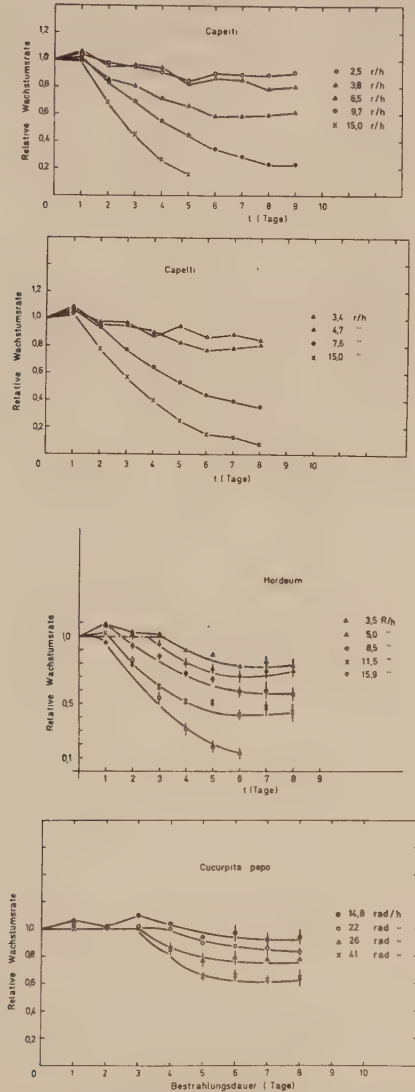


Abb. 15a - 15d: Die Abb.15a- 15d zeigen die relativen Wachstumsraten der Wurzeln unter Dauerbestrahlung für verschiedene Pflanzenarten.

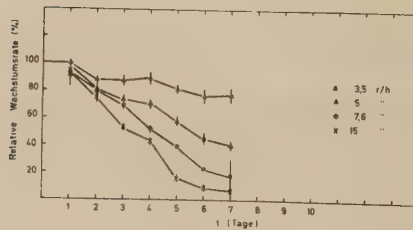
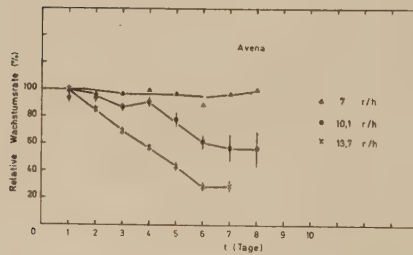
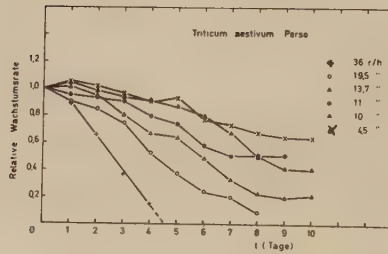
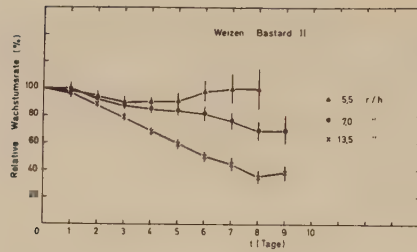


Abb. 15a - 15h: Die Abb. 15a - 15h zeigen die relativen Wachstumskurven der Wurzeln unter Dauerbestrahlung für verschiedene Pflanzenarten.

Dabei wird nach einer Latenzzeit bei nicht zu hohen Dosisleistungen ein konstanter Endwert ("steadystate") der relativen Wachstumsrate erreicht. Aus Übersichtsgründen werden nur bei wenigen Kurven die Streubreiten eingezeichnet, die aber für die anderen Werte etwa die gleiche Größenordnung (5-10%) haben. Hohe Dosisleistungen führen zu einem steten Abfall der täglichen Längenzunahme und schließlich zum Absterben der Wurzeln.

Analog zur Kurzzeitbestrahlung ist das reduzierte Wurzelwachstum unter Dauerbestrahlung ebenfalls auf eine Verminderung der teilungsfähigen Zellen im Meristem zurückzuführen. Theoretisch sind auch eine strahlenbedingte Verlängerung der Mitosezykluszeit oder ein Interferieren mit Differenzierungs- und Zellstreckungsprozessen als Ursache der verminderten Längenzunahme anzusehen. Hornsey (1956) zeigte jedoch, daß 3 Tage nach der Bestrahlung die Mitosezykluszeit bei *Vicia faba* gegenüber den Kontrollen wieder normal war. Van't Hof und Sparrow (1963) fanden bei *Pisum sativum* 3 Tage nach kontinuierlicher γ -Bestrahlung keinen Einfluß auf die Mitosezykluszeit. Clowes und Hall (1963) zeigen für *Vicia faba* nach Einzelzeitbestrahlung einen gegenläufigen Effekt bezüglich der Zykluszeit der Zellen aus dem "Ruhezentrum" ("quiescent center") und den übrigen Bereichen des Meristems. Nach Kurzzeitbestrahlung wird die Zykluszeit der Zellen des "quiescent center" verkürzt, die der übrigen Zonen verlängert. Dies führt zu einer gewissen Equilibrierung, die auch bei Dauerbestrahlung erreicht wird. Dabei besteht gegenüber den Kontrollen kein signifikanter Unterschied. Die hier geprüften Pflanzenarten haben alle eine kürzere Zykluszeit, so daß zu erwarten ist, daß diese Equilibrierung, sofern ein "quiescent center" besteht, im Beobachtungszeitraum erreicht wird. Darüber hinaus sieht das Modell von Kiefer (1966) zur Berechnung der Überlebensrate der Zellen eine Konstanz der Mitosezykluszeit (τ) nicht vor.

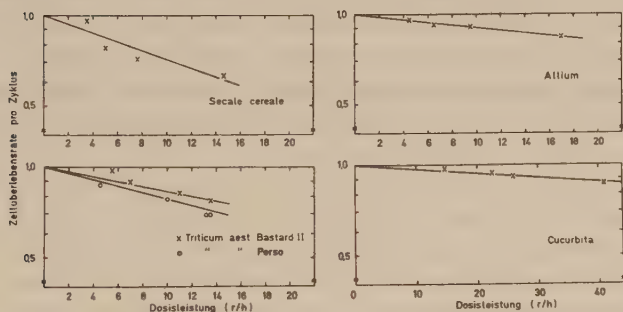
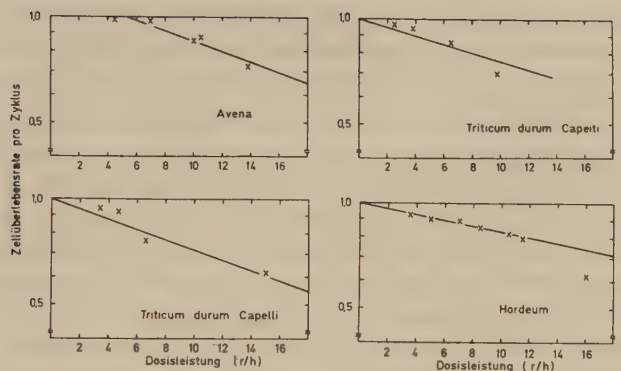
Eine mathematische Beschreibung der Zellpopulationskinetik nach Dauerbestrahlung wurde erstmals von Hall (1963)

und detaillierter von Kiefer (1965) angegeben.

Danach ist es möglich, nach Dauerbestrahlung aus den Endwerten der relativen Wachstumsraten (Abb. 15a-h) den Anteil "sterilisierter" Zellen (1-k) oder den Anteil überlebender Zellen (k) zu berechnen. Eine Ableitung zur Berechnung der Zellüberlebensrate wird im Anhang III gegeben.

Ein konstanter Endwert der relativen Wachstumsrate ist dadurch charakterisiert, daß gerade soviele Zellen durch Teilung im Meristem entstehen ("geboren" werden), wie durch Inaktivierung ausfallen. Man kann leicht abschätzen, daß dies nur für Dosisleistungen gilt, die weniger als die Hälfte ($k < 0,5$) der Zellen unter Dauerbestrahlung zum Absterben bringen. Höhere Dosisleistungen führen zu einem steten Abfall der relativen Wachstumsrate (Abb. 15f) und zum "Absterben" der gesamten Wurzel.

Die Überlebenskurven der Wurzelmeristemzellen haben bis auf Avena einen exponentiellen Verlauf und werden für die untersuchten Pflanzenarten in Abb. 16 gezeigt. Die Dosisleistungswerte (r/h), die 63% der Zellpopulation pro Zellzyklus abtöten ("sterilisieren"), wurden mit $D_{37/CT}$ bezeichnet und sind in Tabelle V Spalte 6 angegeben. Multipliziert man diese Werte mit der Zykluszeit, so erhält man die D_{37} für die Dauerbestrahlung. Hall (1963) hatte zur Berechnung der Überlebenskurven für *Vicia faba* nur einen experimentell ermittelten Wert und bestimmte daraus, unter Annahme eines exponentiellen Verlaufs der Dosis-Effektkurve, die D_{37} . Kiefer (1966) stellte sein Modell für Meristemzellen von Gerstenwurzeln auf und fand dort ebenfalls eine exponentielle Abhängigkeit. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Modellvorstellungen auf weitere Organisationssysteme von anderen Pflanzen, darunter auch Arten wie Kürbis und Lauch, also keine Getreidepflanzen, übertragen. Es wurden auch hier jeweils exponentielle Überlebenskurven für die Zellen des Wurzelmeristems unter Dauerbestrahlung gefunden.



b

Abb. 16 a u. b: Zellüberlebenskurven nach Dauerbestrahlung; berechnet nach den stationären Endwerten der relativen Wachstumskurven aus Abb. 15a-h (siehe auch Anhang III).

Ergebnisse von Berry und Cohen (1962), sowie von Barendsen (1962), die für Säugerzellen in vitro ebenfalls exponentielle Abhängigkeit der Überlebenskurven bei Dauerbestrahlung fanden, unterstreichen unsere Resultate.

Aus den Darstellung von Hall (1962) ist für sehr niedrige Dosisleistungen eine anfängliche Stimulation der Längenzunahme für 1-3 Tage nach Beginn der Bestrahlung zu erkennen, die im Einzelnen von dem Autor nicht diskutiert wird.

Ähnliche Ergebnisse zeigt Evans (1961) für Wurzeln von *Vicia faba* und für *Lilium longiflorum*, Bostrak und Sparrow (1970) für *Pinus strobus*. Bei den hier gezeigten Kurven ist für die 3 Weizenarten, bei Gerste - im Gegensatz zur Arbeit von Kiefer - und bei Kürbis eine Zunahme der relativen Wachstumsrate am 1. oder 2. (bei Kürbis bis zum 4.) Tage festzustellen (Abb. 15). Da eingehende Untersuchungen zu dieser Frage noch ausstehen, soll hier nur eine vorläufige Erklärung aus obigen Literaturangaben und den hier untersuchten Parametern gegeben werden. Unter kontinuierlicher Bestrahlung geringer Dosisleistung gelangen offenbar Zellen früher zur Differenzierung. Die Schädigung greift hierbei nicht in den Differenzierungsprozeß ein, sondern sie stellt vielmehr eine kumulative Schädigung des genetischen Materials dar, so daß die Zellen ihre Teilung vorzeitig einstellen. Dieses kann, betrachten wir eine steady-state Population, zu einem kurzzeitigen Anstieg sich differenzierender, d.h. streckender Zellen führen und damit die Längenzunahme der Wurzel erhöhen. Dieser Zelldifferenzierungs- bzw. Streckungsprozeß ist sehr viel weniger strahlenempfindlich, so daß die Entwicklung des Cytoplasmas weiterläuft und noch Zellsubstanzen in Form von Zellwandmaterial und Proteinen in der Zelle gebildet und eingebaut werden und somit das Trockengewicht erhöhen. Mit fortschreitender Bestrahlung wird sich dann die verminderte Zahl teilungsfähiger Zellen auf das Wurzelwachstum auswirken. Beide Effekte hängen von der Mitosezykluszeit und der Zahl teilungsfähiger Zellen im Meristem ab. Die vorliegenden Kurven scheinen diese Deutung zu bestätigen. Kürbis hat zum Beispiel eine große Zahl von Zellen (ca. 250 000) mit kurzer Zykluszeit (6 h) im

meristematischen Bereich der Wurzelspitze (Abb. 2). Ein Anstieg der relativen Wachstumsrate ist daher bis zu 4 Tagen nach Beginn der Bestrahlung zu registrieren.

Parallel dazu manifestiert sich eine zunehmende Strahlenschädigung der Zellen unter Dauerbestrahlung. Diese ist, wie in Abschnitt V noch gezeigt wird, vom DNS-Gehalt und der Mitosezykluszeit abhängig. Diese beiden Kriterien werden ebenfalls in den relativen Wachstumsraten erkennbar. Wurzeln mit geringer DNS-Menge pro Zelle und kleiner Zykluszeit zeigen einen Abfall der relativen Wachstumsrate erst nach mehreren Zyklen (Tab. V, Abb. 15). Kürbis mit kleiner Zyklusdauer und kleiner DNS-Menge zeigt einen Anstieg bis zum 4. Tag nach Beginn der Bestrahlung gegenüber *Triticum durum*, mit relativ großem DNS-Gehalt pro Kern und kurzer Zykluszeit (10h), bei dem dieser Anstieg am 2. Tag schon beendet ist. Danach erst erfolgt ein dosisleistungsabhängiger Abfall der täglichen Längenzunahme. Bei Roggen hingegen, der eine Zykluszeit von 18 h und eine große DNS-Menge pro Zellkern hat, ist dieser Anstieg nicht zu erkennen.

V. BEZIEHUNGEN ZWISCHEN STRAHLENEMPFINDLICHKEIT UND ZELLULÄREN PARAMETERN

1. Schlußfolgerungen aus den Resultaten nach Kurzzeit- bestrahlung

Die Daten der Tabellen III, IV und V bilden die Bezugswerte für die nun folgenden Überlegungen und die Diskussion. Dazu ist zunächst die präzise Erklärung zweier Begriffe - Strahlenempfindlichkeit und Treffer -, die im Sinne der Treffertheorie dargestellt werden sollen, notwendig. Im Gegensatz zur Treffertheorie sollen hier jedoch nicht treffertheoretische Parameter (z.B. Trefferzahl, Treffbereich, Treffbereichszahl) bestimmt werden, sondern es soll versucht werden, eine Beziehung zwischen formaler Beschreibung, absorbierter Dosis und verschiedenen zellulären Strukturen aufzustellen.

Trägt man nach Bestrahlung den Bruchteil überlebender Objekte auf einer logarithmischen Skala als Funktion der Dosis auf, so erhält man einmal eine exponentielle Abhängigkeit:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-vD} \quad (1)$$

zum Teil andere Kurven, die nach einem "Schulterbereich" in einen exponentiellen Teil übergehen. Im besonderen Fall lassen sie sich durch den Ausdruck

$$\frac{N}{N_0} = 1 - (1 - e^{-vD})^m \quad (2)$$

beschreiben.

Die mathematische Beschreibung besagt, daß im ersten Fall ein empfindlicher Treffbereich existiert und für dessen Inaktivierung ein "Treffer" notwendig ist, da gegen im zweiten Fall mehrere solcher Bereiche innerhalb eines Objekts existieren, die jeweils durch einen "Treffer" inaktiviert werden müssen.

Die Einschränkung, die hier für die Überlebenskurven zur Charakterisierung von Treffer und Strahlenempfindlichkeit gemacht wird, bezieht sich auf die Interpretation

exponentieller Überlebenskurven oder bei Schulterkurven auf den exponentiellen Teil dieser Kurven, wie sie in dieser Untersuchung gefunden wurden. (Abschnitt IV und V, Tab. IV und V). Aus der exponentiellen Abhängigkeit folgt für die Angabe der Dosis D_{37} bzw. D_0

$$\frac{N}{N_0} = 0,37 = e^{-1} \quad \text{wobei } v D = 1 \text{ sein muß.}$$

Dabei ist der Treffbereich v gerade gleich der Neigung der Geraden ($v = \frac{1}{D}$) und wird eindeutig durch die Angabe der Überlebensrate und der dazu gehörigen Dosis charakterisiert. Aus praktischen Gründen wählt man die Dosis, bei der 37 % der Objekte überleben (D_{37}). Bei Schulterkurven wird nur der exponentielle Teil berücksichtigt und die Dosis mit D_0 (oder D_{37}^+) bezeichnet; in der englischen Literatur als "mean lethal dose" oder "inactivation dose" angegeben. Die Neigung der Geraden ($\frac{1}{D_{37}}$ oder $\frac{1}{D_0}$) gibt die Strahlenempfindlichkeit des Objekts an.

Dabei muß jedoch eingeschränkt werden, daß sie nur die Empfindlichkeit einer bestimmten Molekül- oder Zellfunktion - wie Enzymaktivität, Transformationsfähigkeit der DNS, Koloniebildungsvermögen usw. - beinhaltet und nicht die strahlenchemische Empfindlichkeit des Moleküls.

Auf die zelluläre Ebene übertragen besagt diese formale mathematische Beschreibung, daß zur Erzeugung einer molekularen Schädigung (z.B. Bruch von Wasserstoffbrücken) ein ionisierendes Teilchen diesen Bereich passieren muß, wobei eine einmalige Abgabe einer bestimmten Mindestenergie notwendig ist. Bei Untersuchungen von Rauth und Simpson (1964) an Formfar Folien, sowie von Johnson und Rymer (1967) an dünnen DNS-Filmen über den Energieaufwand pro Primärionisation werden in etwa gleiche Spektren der Energieverluste gefunden. Sie zeigen, daß für eine primäre Wechselwirkung am häufigsten eine Energie von 22 eV übertragen wird und der mittlere

Energieaufwand 60 eV beträgt. Stark vereinfacht könnte man also einen Treffer gleichbedeutend mit einer primären Wechselwirkung sehen, wobei die mittlere Energieabsorption pro Primärisation 60 eV beträgt.

Ausgehend von dieser Definition des Treffers kann man ein der Treffertheorie naheliegendes Verfahren zur Berechnung des Treffbereichs anwenden und so eine Beziehung zwischen Treffbereich und Strahlenempfindlichkeit zeigen. Die Dosis (in rad) wird angegeben als absorbierte Energie pro Masseneinheit.

$$D = E / g$$

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ erg} / g = 6,24 \cdot 10^{13} \text{ eV} / g$$

mit 60 eV als mittlerer Energieabsorption pro Primärisation folgt:

$$1 \text{ rad} \stackrel{\Delta}{=} \frac{6,24 \cdot 10^{13}}{60} \frac{\text{eV}}{g} \stackrel{\Delta}{=} 1,04 \cdot 10^{12} \text{ Treffer} / g$$

und die Masse des Treffbereichs ergibt sich zu

$$M \stackrel{\Delta}{=} \frac{1}{D_{37}} \times \frac{1}{1,04 \cdot 10^{12}} \stackrel{\Delta}{=} \frac{0,96 \cdot 10^{-12}}{D_{37}}$$

Das Volumen des Treffbereichs erhält man durch Division mit der Dichte

$$V = \frac{M}{\rho} \stackrel{\Delta}{=} \frac{0,96 \cdot 10^{-12}}{D_{37}}$$

Weiter kann man durch Multiplikation mit der Loschmidt'schen Zahl das Molekulargewicht des Treffbereichs berechnen.

Pollard (1959) verglich so die über ihre Strahlenempfindlichkeit berechneten Molekulargewichte verschiedener Enzyme mit den aus physiko-chemischen Messungen ermittelten und fand eine gute Übereinstimmung. Bertinger und Jung (1969) stellen ähnliche Überlegungen an und kommen zu dem Ergebnis, daß biologische Objekte umso strahlenempfindlicher sind, je größer ihr empfindlicher Treffbereich ist. Als reale Treffbereiche werden bei

Enzymen das ganze Molekül, bei Viren und Bakterien die DNS angegeben. Diese letzte Beziehung kann auch aus unseren Ergebnissen für höhere Pflanzenzellen leicht erkannt werden (Tab. IV).

Ausgehend von der Dosis (in rad) und der Vorstellung, daß die DNS oder das Volumen des Zellkerns den empfindlichen Treffbereich ausmachen, kann man die zur Inaktivierung notwendige absorbierte Energie berechnen. Sie ergibt sich aus:

$$E_{(\text{abs})} = M \text{ (Masse der DNS in g)} \times D_0 \text{ (rad)}$$

Für die Berechnung der absorbierten Energie pro Kernvolumen bzw. pro Chromosomenvolumen folgen wir analog Sparrow und Mitarbeiter (1967) den Angaben von Lea (1962, Tab. 2). Danach ereignen sich im nativen Gewebe pro μ^3 1,77 Ionisationen mit einer mittleren Energieabsorption von 34 eV pro Ionenpaar:

$$E_{(\text{abs.})} = K \times \text{ICV} \times D_0$$

$$K = 60,2 \text{ eV} / \mu^3; \text{ ICV} = \text{Interphase-Chromosomen-Volumen}$$

Die auf diese Weise berechneten Werte der absorbierten Energien sind für verschiedene Endpunkte in Tab. IV angegeben. Die Daten dieser Tabellen wurden in verschiedenen Darstellungen zueinander in Beziehung gesetzt und ihre Signifikanz durch Korrelationsanalysen geprüft. Die Abb. 17 zeigt a) die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit gegenüber dem Interphase-Kernvolumen- und b) gegenüber dem DNS-Gehalt pro Kern in linearer Darstellung. Aus diesen Ergebnissen lassen sich keine Beziehungen zwischen Kernvolumen bzw. DNS-Gehalt pro Kern und dem Kehrwert der mittleren letalen Dosis für alle Arten ableiten. Die Korrelationskoeffizienten betragen für die Regressionsgeraden gegenüber dem Kernvolumen 0,57 und gegenüber dem DNS-Gehalt pro Zelle 0,50 und sind nicht signifikant ($p < 0,05$).

Darstellung erweisen sich die polyploiden Arten eindeutig als resistenter. In doppellogarithmischer Darstellung erhält man eine Regressionsgerade ($\log y = 3,3 - 0,95 \log x$), die nicht wesentlich von einer Steigung -1 abweicht.

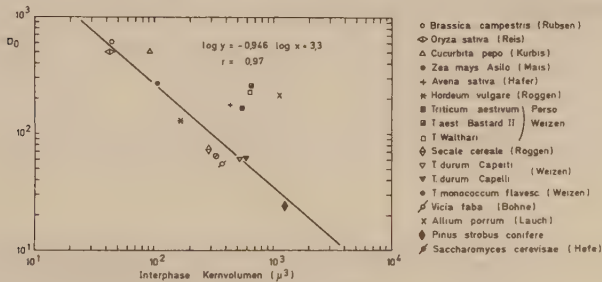


Abb. 18: Abhängigkeit der D_0 vom Interphase-Kernvolumen in log - log Darstellung.

In die weiteren Überlegungen soll *Allium porrum* nicht mit einbezogen werden. Einmal ist nicht ganz auszuschließen, ob, wie schon in Abschnitt 2 erwähnt, die Zellpopulationskinetik des Meristems - die Wurzelspitze besteht nur aus relativ wenigen Meristemzellen - den Modellvorstellungen zur Berechnung der Überlebensraten genügt. Zum anderen ist bekannt, daß Zellen dieser Pflanzengattung reich an Senfölen sind, deren hoher Gehalt an SH-Gruppen bekannt ist, und die deshalb evtl. einen intrazellulären Schutz gegenüber ionisierenden Strahlen darstellen. Ein Indiz für beide Vermutungen könnte auch die exponentielle $D_{0,1s}$ -Effekt-Kurve sein. Eine vollständige Erklärung für die erhöhte Resistenz kann jedoch nicht gegeben werden.

Sparrow et al. (1963, 1965, 1967) und Baetcke et al. (1967) zeigen eine wesentlich bessere Abhängigkeit

zwischen Strahlenempfindlichkeit und den entsprechenden chromosomalen Parametern (ICV und DNS/Chromosom). Diese Korrelation wurde auch für die entsprechenden Werte und Ergebnisse dieser Untersuchung geprüft und ihre Abhängigkeit in Abb. 19, 20 und 21 aufgetragen. Die unterbrochene Gerade in Abb. 19 repräsentiert die Abhängigkeit für alle Werte ($r = 0,94$); bei der durchgezogenen Geraden wurden die hexaploiden Weizenarten und Hafer nicht berücksichtigt ($r = 0,96$).

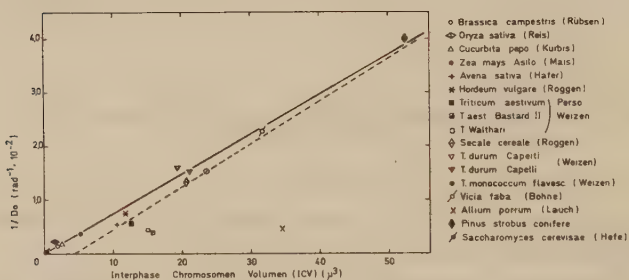


Abb. 19: Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit vom Interphase-Chromosomen-Volumen (ICV). Die unterbrochene Regressionsgerade repräsentiert alle Werte; bei der ausgezogenen Geraden wurden die Werte für die hexaploiden Weizenarten und Hafer nicht mitberücksichtigt.

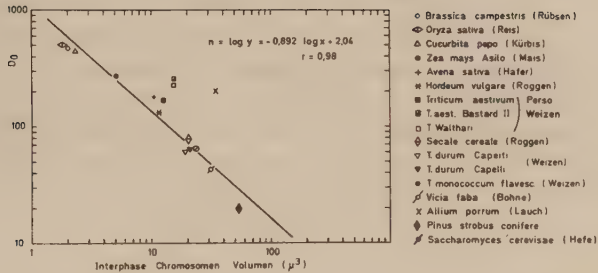


Abb. 20: Abhängigkeit der D_0 vom ICV in doppellogarithmischer Darstellung

Wie aus der Kurve ersichtlich, lassen sich auch bei dieser Darstellung die hexaploiden Arten nicht gut der Geraden zuordnen, wenn auch ein signifikanter Unterschied nicht zu sichern ist. In der doppellogarithmischen Auftragung der D_0 -Werte gegenüber dem ICV ergibt sich eine Regressionsgerade ($\log Y = 2,0 - 0,892 \log x$). Die Steigung ist nicht signifikant von -1 verschieden (Abb.20).

Entsprechend der eingangs erwähnten Abhängigkeit von ICV und DNS-Gehalt pro Chromosom waren analoge Kurven zu erwarten (Abb.21), wenn man den Kehrwert der mittleren letalen Dosis ($\frac{1}{D_0}$) gegenüber dem DNS-Gehalt pro Chromosom aufträgt. Aus der Abb. 21 ist ersichtlich, daß, im Gegensatz zu Underbrink et al. (1968), eine lineare Abhängigkeit auch zwischen $\frac{1}{D_0}$ und dem DNS-Gehalt pro Chromosom besteht. In der doppellogarithmischen Darstellung, sie wird hier nicht gezeigt, beträgt die Steigung 0,69 ($r = 0,86$).

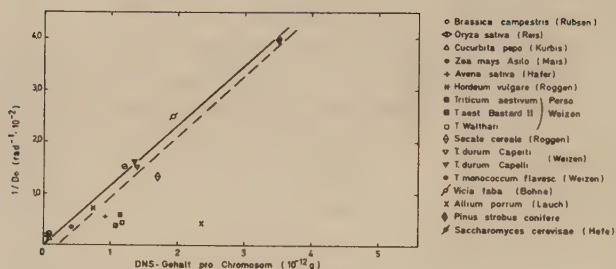


Abb. 21: Korrelation zwischen Strahlenempfindlichkeit und DNS-Gehalt pro Chromosom.

Die D_0 -Werte variieren im Mittel von 25 rad bis 600 rad, das Chromosomenvolumen von 1,8 bis 52,4 μ^3 . Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen für die hier untersuchten 16 Pflanzenarten die Hypothese, daß für höhere Pflanzenzellen die Strahlenempfindlichkeit proportional zum ICV bzw. dem DNS-Gehalt pro Chromosom ist. Eine Beziehung zwischen DNS-Gehalt pro Zelle bzw. Zellkernvolumen kann bei den hier untersuchten Arten nur für diploide Zellen gezeigt werden.

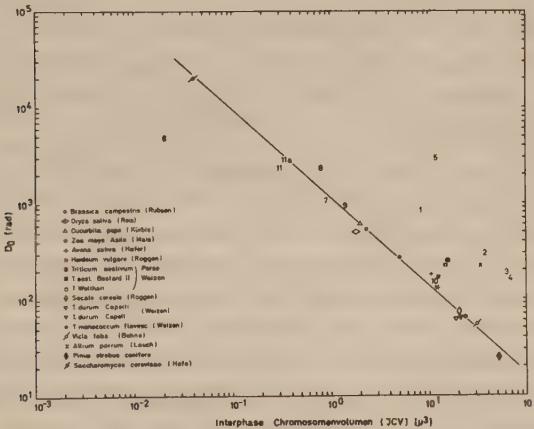
Generell zeigt sich bei einem Vergleich unserer Ergebnisse gegenüber denen von Sparrow und Mitarb. die Tendenz, daß diploide Pflanzenzellen in die Radiotaxa 6 und 7 (Abb. 23) einzuordnen sind. Eine diesbezügliche Analyse unserer Daten zeigt:

1. daß die Korrelation der D_0 gegenüber dem DNS-Gehalt pro Chromosom ebenfalls als signifikant angenommen werden kann,
2. daß für diploide Zellen eine sehr gute Korrelation zwischen D_0 und ICV bzw. DNS-Gehalt pro Chromosom besteht,

die polyploiden Arten dagegen etwas herausfallen und evtl. einer anderen Gruppe zuzuordnen sind,

3. daß sich auch für meristematische Pflanzenzellen die Vorstellung bestätigt, wonach die DNS als primärer Treffbereich anzusehen ist und, diese Zellen umso strahlenempfindlicher sind, je größer ihr Treffbereich ist.

Ergänzend werden die von uns für meristematische Pflanzenzellen berechneten D_{0-} -Werte in doppellogarithmischer Auftragung zusammen mit D_{0-} -Werten für verschiedene Objekte aus Ergebnissen anderer Autoren (Zusammenstellung bei A.H.Sparrow, 1967) dargestellt (Abb.22).



- | | |
|-------------------------|-------------------------------------|
| 1. Tradescantia Blossf. | 6. Sacch. cerev. haploid |
| 2. " rosea | 7. Pseudomonas fluoresc. |
| 3. " virginia | 8. Chlamydomonas reinhardi |
| 4. " Clone O2 | 9. Marchantia polymorpha |
| 5. Euglena gracilis | 10. Rana pipiens |
| | 11 und 11a. E.coli B, E.c. K12 /Hfr |

Abb. 22: Korrelation der D_{0-} -Werte verschiedener Objekte und ihrer Interphase-Chromosomen-Volumen. Die mit Zahlen gekennzeichneten Werte sind nach Angaben von A.H.Sparrow (1967) ergänzt.

Dabei zeigt sich eine gute Übereinstimmung bezüglich der oben diskutierten Abhängigkeit, die sich über 4 Zehnerpotenzen erstreckt. Sie umfaßt Objekte von E.coli über

diploide Hefen bis zu Pflanzenzellen der Radiotaxa 4-7. Die Werte der 8. Gruppe, dazu müßten wir auch die Werte für die polyploiden Pflanzenzellen dieser Arbeit zählen, zeigen deutlich eine größere Resistenz und lassen sich der Geraden schlecht zuordnen.

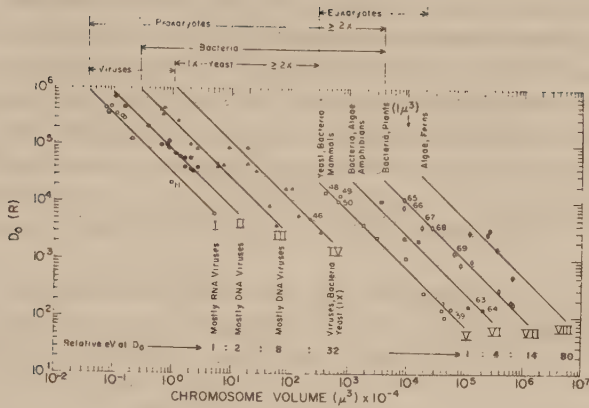
Die Linearität in Abb. 19 und 21 (in der log-log Auftragung der Abb. 20 und 22 folgt dies aus der Steigung -1) besagt, daß das Produkt der beiden Variablen eine Konstante ergibt. Sie stellt die absorbierte Energie pro Chromosom bzw. pro Kern dar (Tab. IV, Spalte 12-15), was aus den Überlegungen zur Treffertheorie folgt. In der Tabelle V wurden die Mittelwerte der absorbierten Energiebeträge (keV) für die verschiedenen Parameter, entsprechend der Gruppierung, in diploide oder polyploide Species angegeben. Die Angaben in den Spalten 7 und 8 beziehen sich auf die Gleichungen der Regressionsgerade.

Spezielle Probleme der Mikrodosimetrie und der Energieabsorption (Rossi, 1960) wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt. Die Abb. 19-22 und die Angaben in der Tabelle V sind durch die Abb. 23 ergänzt, in der die verschiedenen Regressionsgeraden und die mittleren absorbierten Energiebeträge für die einzelnen Radiotaxa nach Sparrow (1967) angegeben werden. Daraus wird ersichtlich, daß die von uns angegebenen mittleren Energieabsorptionen etwas geringer sind ($\approx \frac{1}{5}$), aber dennoch mit der Angabe von Sparrow und Mitarbeitern (A.H.Sparrow et al., 1967; Underbrink et al., 1968; Baetcke et al., 1967) vergleichbar, wenn man berücksichtigt, daß dort eine Reihe polyploider Zellen mit erfaßt wurde. Zwischen der Extrapolationszahl (n) und der Zahl der Chromosomen läßt sich keine Abhängigkeit zeigen (Korrelationskoeffizient $r = 0,5$). Sie wäre jedoch zu erwarten, wenn im Sinne der Treffertheorie das gesamte Chromosom als "Treffbereich" anzusehen wäre.

Species	Parameter	$\bar{E}/ICV$ keV	$\bar{E}/DNS$ /Chrom. keV	$\bar{E}/Kernv.$ MeV	$\bar{E}/DNS$ pro Zelle keV	Gleichung der Regressionsgeraden	Korrelations- koeffizient a) linear b) log log
1	2	3	4	5	6	7	8
alle Arten	D_0	1027 ± 52	$74 \pm 5,0$	$22 \pm 0,2$	2210 ± 58	$\log y = 3,89 - 0,085 \log X$	1) 0,94 3) 0,97 2) 0,96
alle Arten ohne Hafer u. Weizen (6n=42)	D_0	$75,2 \pm 12$	$5,0 \pm 2,3$	$1,6 \pm 0,5$	878 ± 35	$3 \log y = 2,04 - 0,89 \log X$	1) 0,96 3) 0,98 2) 0,95
Hafer u. Weizen	D_0	1733 ± 3	$14,1 \pm 3,5$	$7,3 \pm 2,5$	$154,4 \pm 5,4$ $595,4 \pm 14,6$		
Weizen	D_0		$15,4 \pm 2,9$	$8,1 \pm 0,8$	$649,3 \pm 12,1$		
alle Arten	$D_0 \cdot CT$	$527,3 \pm 209$	$38,5 \pm 18,2$			$\log y = 0,275 - 0,085 \log X$	4) 0,85 2) 0,79
alle Arten ohne Hafer u. Weizen (6n=42)	$D_0 \cdot CT$	$413,9 \pm 160$	$27,8 \pm 14,2$				

1) $\frac{1}{D_0} \rightarrow ICV$ 2) $\frac{1}{D_0} \rightarrow DNS/Chromosom$
 3) $D_0 \rightarrow ICV$ 4) $\frac{1}{D_0 \cdot CT} \rightarrow ICV$

Tabelle V : Zusammenstellung der Mittelwerte für die absorbierten Energiebeträge, wie sie sich für verschiedene Arten durchführen läßt. Es wurden alle Arten erfaßt und die polyploiden gesondert gemittelt. Die Angaben für die Regressionsgeraden beziehen sich auf die doppellogarithmische Darstellung, die, der Korrelationskoeffizienten, entsprechend der Bezeichnung sowohl für lineare als auch doppellogarithmische Korrelationen.



	keV		keV
I	0,206 ± 0,04	V	43,88 ± 10,6
II	0,513 ± 0,09	VI	162,26 ± 44,4
III	1,651 ± 0,31	VII	600,53 ± 118,3
IV	6,963 ± 2,17	VIII	3434,76 ± 1210,2

Abb. 23 : Angabe der Korrelationen zwischen ICV und D_0 -Werten der verschiedenen Radiotaxa und der ihnen entsprechenden absorbierten Energiebeiträge (keV) pro Chromosom (nach Sparrow, 1967)

2. Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen nach Dauerbestrahlung und Diskussion

Wie die Diskussion für die Ergebnisse der Einzeitbestrahlung gezeigt hat, ist die D_0 umgekehrt proportional zum ICV oder zum DNS-Gehalt pro Chromosom. Diese Relation läßt sich auch für die Ergebnisse der berechneten Dosisleistungswerte (R/h) nach Dauerbestrahlung aufstellen. Sie ist jedoch wenig sinnvoll, da direkte Vergleiche mit Ergebnissen der Einzeitbestrahlung nicht möglich

wären. Es ist daher notwendig, die D_{37} für Dauerbestrahlung zu ermitteln. Aus der Abb. 16 kann man die Dosisleistung (R/h) bestimmen, unter der 37% der Zellen pro Zellzyklus überleben. Wird diese $D_{37}(CT)$ mit der Mitosezykluszeit der Zellen multipliziert, so erhält man die D_{37} für die Meristemzellen unter Dauerbestrahlung. Sie soll hier, zur Unterscheidung gegenüber der D_0 bzw. D_{37} nach Einzeitbestrahlung, mit $D_{37}(\text{dauer})$ bezeichnet werden.

$$\text{Dosisleistung}_{37}(CT) (r/h) \cdot \text{Zellzykluszeit} (h) = D_{37}(\text{dauer})$$

Die $D_{37}(\text{dauer})$ gibt die Dosis an, bei der insgesamt 37% der Meristemzellen unter Dauerbestrahlung überleben. Sie wird in Abb. 24 in Beziehung zum Chromosomenvolumen (ICV) gesetzt.

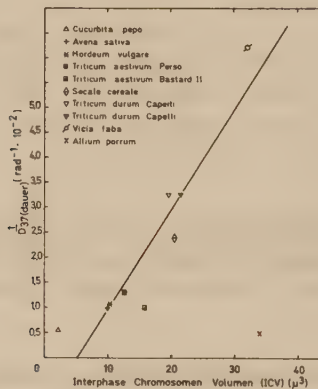


Abb. 24: Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit unter Dauerbestrahlung (Def. Tab. VI) vom ICV für Zellen verschiedener Pflanzenwurzeln.

Die Korrelation zeigt, daß auch unter Dauerbestrahlung die Strahlenempfindlichkeit proportional zum Chromosomenvolumen verläuft ($r = 0,91$). Die gleiche Abhängigkeit besteht auch zwischen dem DNS-Gehalt pro Chromosom und

dem Kehrwert der $D_{37}(\text{dauer})$. Der Korrelationskoeffizient beträgt dabei 0,795.

Die Mittelwerte der Energieabsorption betragen bei Dauerbestrahlung 626 ± 66 KeV pro Chromosomenvolumen und $38,5 \pm 5,8$ KeV für den DNS-Gehalt pro Chromosom. Man ersieht, daß diese Werte etwa 5-6 mal größer sind als die entsprechenden Werte für die Energieabsorption nach Einzeitbestrahlung. Eine einfache Relation zur Charakterisierung der erhöhten Strahlenresistenz unter Dauerbestrahlung wird durch den Quotienten

$$\frac{D_{37}(\text{dauer})}{D_0} = \text{Resistenzzunahme}$$

(Tabelle VI, Spalte 8) angegeben. Er schwankt zwischen 3,3 und 7,3. Für *Vicia faba* (Hall, 1963) wird dieser Wert mit 3,8, für Säugerzellen in vitro (Barendsen, 1962) mit 2,5 - 4,1 angegeben.

Species	Mitose Zyklus- Zeit (h)	D ₀ (r)	D ₃₇ (CT) (r/h)	D ₃₇ (dauer) (r)	E _{abs} pro ICV (keV)	E _{abs} pro DNS/Chrom (keV)	D ₃₇ (dauer) D ₀
Vicia faba	19*	55	9,2* ^f	165 ± 46	312	19,6	3,8
Allium porrum	18	220	100	1800	3755	191,0	8,2
Trit. durum Capeiti	10,5	62,5	29,5	309,8	357	26,7	4,9
Trit. durum Capelli	10,5	65	29,0	304,5	387	26,0	4,7
Secale cereale	16,5	70	29,5	486,8	600	51,6	6,9
Trit. aest. Bastard II	18,5	255	52,5	971,3	918	65,5	3,8
Tritic. aest. Perso	18,5	230	40	740	557	52,6	4,4
Hordeum vulgare	18,0	130	53	954	683	43,5	7,3
Avena sativa	15	180	66	990	626	56,8	5,5
Cucurbita pepo	6	515	284	1704	234	7,1	3,6

Tabelle VI: Angaben verschiedener Größen zur Beschreibung der Strahlenempfindlichkeit und der absorbierten Energie bezüglich der zellulären Parameter, wie sie sich aus den relativen Wachstumskurven berechnen lassen

D_(37 CT): Dosisleistung (r/h), bei der unter Dauerbestrahlung 37% der Zellen pro Zellzyklus überleben.

D_(37 dauer): Dosis, bei der 37% der gesamten Meristemzellen überleben.

CT : Mitosezykluszeit

+ : Zykluszeit für Vicia faba (Howard, 1963)

++ : D₃₇(dauer) Hall (1963)

VI. DISKUSSION

Beim Vergleich unserer Ergebnisse mit denen der Abb. 23 scheint die Tatsache interessant, daß die zur Inaktivierung notwendige absorbierte Energie mit zunehmendem Organisationsgrad der Objekte zunimmt, Das bedeutet, daß die Inaktivierungswahrscheinlichkeit, auf das Chromosomenvolumen oder die DNS-Menge pro Chromosom bezogen, bei höheren Pflanzenzellen sehr viel niedriger liegt als bei Viren, Phagen und Bakterien. Anders gesagt, Viren und Phagen sind, obwohl zu ihrer Inaktivierung sehr viel größere Dosen notwendig sind, strahlenempfindlicher. Der Grund dafür ist allein in den Volumenverhältnissen und der chromosomalen DNS-Struktur zu sehen. Infolge der geringen Treffbereichsgröße wird bei diesen Objekten bei gegebener Dosis die Zahl der primären Wechselwirkungen sehr viel niedriger liegen.

Terzi (1961) und Kaplan und Moses (1964) zeigen beim Vergleich der Strahlenempfindlichkeit verschiedener Objekte gegenüber ihrem DNS-Molekulargewicht bzw. dem Nucleotid-Gehalt pro Genom eine Gruppierung in vier verschiedene Gruppen, die im wesentlichen im Zusammenhang mit der Komplexizität des genetischen Materials zu sehen sind.

Eine Erklärung für die Resistenzzunahme von Gruppe 1 (RNS- und DNS-Viren - einsträngig) zu Gruppe 2 (doppelsträngige DNS-Viren) ist darin zu sehen, daß bei einsträngigen RNS- und DNS-Viren bereits ein Einzelstrangbruch zu deren Inaktivierung genügt, wohingegen Einzelstrangbrüche bei Viren mit doppelsträngiger DNS weitgehend wirkungslos bleiben. Für den Resistenzgewinn beim Übergang der Gruppe 2 zu 3 und 4 wird von Kaplan und Moses ein Grund angegeben, der wesentlich formalen Charakter hat und auf einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit und DNS-Gehalt hinausläuft. Dabei zeigen die Exponenten die Trefferwahrscheinlichkeit für die Auslösung von Einzelstrangbrüchen,

Doppelstrangbrüchen, rezessiven und dominanten Letal-Mutationen an.

Vergleicht man die Werte für die Energieabsorption pro Chromosom (Tab. IV, Spalten 14 u. 15), so fällt auf, daß die auf der Basis des ICV berechneten Werte etwa 15 mal größer sind als die, die sich aus dem DNS-Gehalt pro Chromosom ergeben. Dies wird einsichtig, wenn man die entsprechenden Funktionsformen der Chromosomen im Zellkern betrachtet.

Die Beziehung zwischen DNS-Molekül und "Chromosomenstruktur" ist für Bakterien (E.c.) sehr gut bekannt. Hier ist nur eine Doppelhelix pro Genom mit einer Länge von 700 bis 800 μ und einem Mol-Gewicht von 2,3 bis $4,6 \times 10^9$ Dalton vorhanden (Davern, 1966).

Die Struktur der Interphase-Chromosomen in Eukaryonten dagegen wird, soweit hier Literaturangaben vorliegen (Zusammenfass. bei B. John und K.R. Lewis, 1969), als langer "Faden" aus zwei oder mehr Doppelsträngen, die zusätzlich durch Kernproteine (Taylor, 1966) stabilisiert sind, dargestellt. Das Volumen der Chromosomen wird also zusätzlich durch einen Anteil Karyolymphe, RNS-Partikel und andere Kernproteine mitbestimmt. Das Verhältnis von ICV (μ^3) zu 1 pg chromosomale DNS wird von Conger (1970) für Eukaryonten mit 13 : 1 und für Prokaryonten mit 3,2 - 3,6 : 1 angegeben. Diese Angaben bestätigen das von uns gefundene Verhältnis von 15 : 1 für die Energieabsorption von ICV zu DNS pro Chromosom. Die etwa 15-fach höhere Energieabsorption repräsentiert, treffortheoretisch interpretiert, den Anteil der Energie, der in diesen Komponenten in der Umgebung des DNS-Moleküls absorbiert wird.

Es ergibt sich die Frage, inwieweit diese Energieabsorption zur Schädigung der DNS und zur Letalität der Zelle beiträgt. Dazu wollen wir im Sinn der Treffbereichstheorie einen formalen Schritt tun, indem wir diesen Teil der Energieabsorption als indirekten Effekt

eliminieren und seine Wirkung vernachlässigen. Dies ist sicher nur zu einem Teil zulässig, da bekanntlich eine Schädigung sehr wohl über strahleninduzierte diffusibele Radikale aus der Umgebung des Moleküls bekannt ist (Hagen, 1968). Dieser formale Schritt erlaubt aber, nur die Energiebeträge zu berücksichtigen, die tatsächlich innerhalb des Moleküls absorbiert werden und zur Schädigung beitragen.

Neuere Untersuchungen von Dalrymple (1969 a, b) deuten darauf hin, daß wahrscheinlich im Gegensatz zu in vitro Systemen die direkte Schädigung in der Zelle eine sehr viel größere Rolle spielt. Weiter zeigten Sanner und Phil (1968) und Coquerelle et al. (1969) bei strahlenbiologischen Experimenten an Phagen-DNS sowie Addams und Cooke (1969) bei strahlenchemischen Untersuchungen, daß die Bedeutung der indirekten Wirkung in der Zelle für den Verlust der Teilungsfähigkeit als gering anzusehen ist, da die wirksamen Radikale nur über sehr kurze effektive Weglängen verfügen.

Aus diesem Grunde erscheinen uns die Werte der Tabelle IV, Spalte 15, signifikanter, da sie eine Aussage über evtl. Einzel- und Doppelstrangbrüche pro Chromosom zulassen. Sinsheimer (1959) zeigte an 174-Phagen (ein Phage mit einsträngiger DNS), daß deren Inaktivierung durch eine einzige primäre Wechselwirkung ionisierender Strahlen mit der DNS erfolgt. Sie resultiert aus einem einzigen Bruch des DNS-Moleküls und ist mit einer mittleren Energieübertragung von 60 eV verbunden (Block, 1967). Bei doppelsträngigen Viren ist die Inaktivierungswahrscheinlichkeit geringer. Daraus folgt, daß bei doppelsträngigen Viren Einzelstrangbrüche weitgehend wirkungslos bleiben und erst Doppelstrangbrüche für die Zelle ein letales Ereignis darstellen (Freifelder, 1966). Analoge Ergebnisse wurden wiederholt publiziert (Freifelder, 1966, 1968; McGrawth and Williams, 1966; Boyce und Tupper, 1968; Summers und Szybalski, 1967; Veatch und

Okada, 1969; Painter, 1970; Lett et al., 1967; Corry und Cole, 1968); auch von anderen Objekten und Zellen höherer Organismen. Dabei zeigen die Untersuchungen, daß die pro Strangbruch aufzuwendenden Energien recht konstant sind und kaum von der Zellart abhängen. Sie lassen sich aus den Angaben der Autoren berechnen und liegen zwischen 35 eV (Freifelder, 1966) bei T 7-Phagen und 172 eV (Veatch und Okada, 1969) bei Mäuse-L-Zellen für einen Einzelstrangbruch, sowie zwischen 396 eV (s.o.) und 1720 eV (s.o.) für einen Doppelstrangbruch.

Damit läßt sich über die mittlere absorbierte Energie pro Chromosom eine sehr formale Aussage über die Anzahl von Strangbrüchen an DNS-Molekülen machen und abschätzen, inwieweit sie zur Inaktivierung der Zelle beitragen. Lassen wir die polyploiden Arten (T.aest. und Hordeum) unberücksichtigt, so sind im Durchschnitt 50 KeV pro Chromosom zur Inaktivierung der Zelle notwendig. Diese Energieabsorption entspricht ungefähr 30 bis 143 Einzelstrang- und 3,5 bis 12 Doppelstrangbrüchen pro Chromosom. Eine einfache Abschätzung zeigt, daß sich pro Doppelstrangbruch etwa 10 Einzelstrangbrüche ereignen können. Daraus eine Aussage über die DNS-Molekülstruktur im Chromosom zu machen, scheint zur Zeit zu früh. Berücksichtigt man jedoch Ergebnisse über biochemische DNS-Molekulargewichtsbestimmung für chromosomale DNS, so scheinen diese die Vorstellung zu stützen, daß das Chromosom (oder als Untereinheiten die Chromatiden) aus einem einzigen DNS-Molekül besteht, wobei ein Doppelstrangbruch den Verlust der unbegrenzten Teilungsfähigkeit zur Folge hat. Lett et al. (1967) zeigten für Säugorzellen, daß das Chromosom auch dort offenbar nur aus wenigen, wenn nicht einem einzigen DNS-Molekül besteht.

Weiter würde obige Berechnung mit Literaturangaben übereinstimmen, wonach es z.Zt. keine Argumente für die Reparatur von Doppelstrangbrüchen gibt (Sawada und Okada; 1970 Painter, 1970).

Aus der höheren Signifikanz der Korrelationswerte kann man eine größere Bedeutung der DNS-Menge pro Chromosom oder des DNS-Moleküls im Chromosom für die Ausbildung des Strahlenschadens erkennen, als sie der Gesamt-DNS-Gehalt der Zelle oder die Anzahl der Brüche pro Zelle darstellt. Veatch und Okada (1969) zeigen z.B., daß zur Inaktivierung von Leukämie-Zellen der Maus bei einer D_0 von 180 rad ungefähr 540 Einzel- und 60 Doppelstrangbrüche notwendig sind. Auf ~~das~~ Chromosom bezogen, würden das etwa 1-2 Doppelstrangbrüche bedeuten.

Vergleicht man auf dieser Basis weitere Werte für die zur Inaktivierung notwendige Zahl von Einzel- und Doppelstrangbrüchen, so läßt sich zeigen (Abb. 22), daß die Strahlenempfindlichkeit der DNS für Viren bis hin zu Pflanzen- und Säugerzellen ungefähr von gleicher Größenordnung ist. Unterschiede in der Energieabsorption und damit der Strahlenempfindlichkeit ergeben sich offenbar nur aus der Struktur und Anordnung des DNS-Moleküls im "Chromosom". Genotypische Konstitution, Ploidie, Polytänie, einzel- oder doppelsträngige DNS, DNS-Proteinkomplexe und die Bildung von echten Chromosomen sind Parameter, die noch eingehend zu prüfen sind. Untersuchungen über die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit verschiedener Bakterienstämme oder Zelllinien bestätigen diese Annahme, da bezüglich der Anzahl der Strangbrüche, also auf dem Niveau der primären Schädigung, keine Unterschiede bestehen. Diese resultieren offenbar aus einer verschiedenen Anordnung der DNS-Moleküle im "Chromosom" oder aus verschiedenen Reparatursystemen (McGrawth und Williams, 1966; Kaplan, 1966; Alexander und Lett, 1966).

Einzelstrangbrüche spielen für den Verlust der Teilungsfähigkeit der Zellen und die Replikation der chromosomalen DNS offenbar eine untergeordnete Rolle. Hier haben Untersuchungen der letzten Jahre auch gezeigt, daß eine Reparatur dieser Läsionen bei Bakterien und auch bei Säugerzellen möglich ist und mit relativ hohen Raten

erfolgt (Sawada und Okada, 1970; Freifolder, 1966; Humphrey, 1968; McGrawth und Williams, 1966). Beweise für die Reparatur von Doppelstrangbrüchen gibt es mit einer Ausnahme bei *Micrococcus radiodurans* (Dean et al., 1966) z.Zt. nicht.

In einer Untersuchung von Underbrink et al. (1968) wird die D_0 ebenfalls zum DNS-Gehalt pro Chromosom verschiedener (insges. 79) Objekte in Beziehung gesetzt. Dabei ergeben sich im Gegensatz zu einer früheren Arbeit von Sparrow et al. (1967), bei der das ICV als Parameter benutzt wurde, nur noch 4 Regressionsgeraden. Sie fassen jeweils eine Anzahl von Viren, Bakterien oder höheren Zellen zusammen, deren Strahlenempfindlichkeit annähernd gleich groß ist. Diesem Schema lassen sich unsere Ergebnisse, die erstmals D_0 -Werte für eine Reihe von höheren Pflanzenzellen angeben, sehr gut zuordnen.

Die erste Gruppe umfaßt Viren mit einsträngiger DNS bzw. RNS, bei denen ein Einzelstrangbruch Letalität zur Folge hat. Der zweiten Gruppe können alle Doppelstrangviren zugeordnet werden, bei denen die Inaktivierung mit dem Bruch beider DNS-Stränge korreliert ist. Für die Individuen der dritten Gruppe Bakterien, Hefen und diploide Zellen höherer Organismen läßt sich nur ein Zusammenhang zwischen D_0 und den entsprechenden Parametern der Chromosomen zeigen. Auf der Grundlage der Messungen von Freifolder lassen sich für diese Zellen pro Chromosom 55 Einzel- und 6 Doppelstrangbrüche berechnen, was unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen mit unseren Ergebnissen gut übereinstimmt. In die vierte Gruppe sind vorwiegend polyploide Pflanzenzellen einzuordnen.

Es erhebt sich weiter die Frage, warum unter Dauerbestrahlung eine sehr viel niedrigere Strahlenschädigung der Meristemzellen zu beobachten ist, eine Tatsache, die auch von anderen Autoren wiederholt diskutiert wird. Die meisten Argumente sprechen für eine Kompensation der gesetzten Schäden unter Dauerbestrahlung bei niedriger

Dosisleistung. Offenbar werden verschiedene Reparatursysteme wirksam, die eine Ausbildung des Schadens verhindern. Damit erhöht sich die Gesamt-Dosis, die notwendig ist, um einen bestimmten Prozentsatz der Zellen abzutöten.

Nach den Ergebnissen und den aufgezeigten Relationen muß man eine Proportionalität zwischen der Anzahl der Strangbrüche und der absorbierten Energie annehmen. Bei gleicher Dosis wird demnach die Anzahl der Brüche mit dem Chromosomenvolumen ansteigen. Oder anders ausgedrückt, wenn zur Inaktivierung der Zellen eine bestimmte Anzahl von Läsionen pro Chromosom notwendig ist, lassen sich die primären Wechselwirkungen eher mit der absorbierten Energie als mit der D_0 korrelieren. Darüber hinaus sind eine Reihe biochemischer Regelprozesse zu erwarten, die eine gewisse Modifikation des gesetzten Primäreffektes zur Folge haben. Beide Ereignisse (Absorption bestimmter Energiebeträge in Verbindung mit einer spezifischen Schädigung und die Reparatur von Einzelstrangbrüchen) lassen sich im Sinne der Treffertheorie als biologische Variabilität durch Änderung der Größen v (Volumen), n (Treffer) und m (Treffbereiche) nur schwer beschreiben. Hier könnte, wie es sich gezeigt hat, die Ermittlung des Treffbereichs eine Alternative oder Ergänzung zur Interpretation der Ergebnisse sein und eine Zuordnung zwischen Inaktivierungsmechanismus und zellulärer Struktur ermöglichen.

VII. STRAHLENEMPFFINDLICHKEIT UND POLYPLOIDIE

In vielen Veröffentlichungen wurde die Frage einer Beziehung zwischen Polyploidie und einer damit bedingten Zunahme der Strahlenresistenz bei Pflanzenzellen diskutiert. Wie aus den Ergebnissen dieser Arbeit zu ersehen ist (Abb. 8 und 9 und Tab. IV), sind bei den untersuchten di-, tetra- und hexaploiden (allopoliden) Weizenarten Unterschiede in der Strahlenresistenz festzustellen, die offenbar genetisch bedingt sind. Hafer, ebenfalls eine natürliche hexaploide Art mit den Genomen ABD, zeigt ein ähnliches Verhalten bezüglich D_0 und Energieabsorption. Die Diskussion soll sich jedoch nur auf die Vergleichswerte der diploiden Weizenart beschränken.

Zur geschlossenen Darstellung werden die Dosis-Effektkurven nochmals in Abb. 25 gezeigt und die relativen Werte in Tab. VII angegeben.

Sie zeigt in Spalte 4 und 6 die relativen Werte der DNS-Mengen pro Korn und Chromosom, die sich entsprechend den Chromosomensätzen 1:2:3 verhalten. Die Werte für das Kernvolumen und das ICV zeigen nicht das gleiche Verhältnis. Das bedeutet, daß bei den tetra- und hexaploiden Arten die DNS-Konzentration, d.h. DNS-Menge, pro Zellkern bzw. pro Chromosom zunehmen muß.

Die D_0 jedoch ist für *Triticum monoc.* und *Triticum durum* annähernd gleich, für *Triticum aest.* ist sie etwa um den Faktor 3 erhöht (siehe auch Spalte 11).

Die Literaturangaben zur Frage einer Resistenzzunahme durch Polyploidie sind unterschiedlich. Boyle (1968), Lange (1969) und Miller (1970) zeigen, daß eine Zunahme der Chromosomensätze ohne Effekt auf die Strahlenschädigung bleibt. Für Pflanzenzellen wird eine Zunahme der Resistenz angegeben (Zusammenfassung bei Sparrow et al. 1965, 1961, 1967). Laskowski (1966) dagegen findet bei polyploiden Hefestämmen gegläufte Ergebnisse.

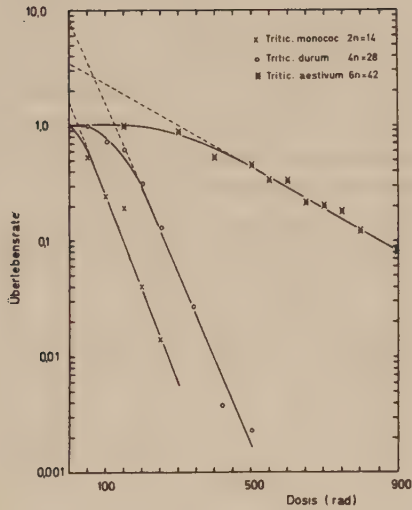


Abb. 25: Verlauf der berechneten Dosis-Effektkurven für (a) diploide, (b) tetraploide und (c) hexaploide Weizenarten

- a) *Triticum monococcum* flavesc
- b) *Triticum durum* Capelli
- c) *Triticum aestivum* Bastard II

Tabelle VII : Relativwerte verschiedener Zellparameter, Dosisleistung und D_{37} (dauer)
polyploider Weizenarten im Verhältnis zur diploiden Art *Triticum monococcum*

Species	Chromoso- menzahl	Kernvo- lumen	DNS-Gehalt pro Kern	ICV	DNS-Gehalt pro Chrom.	D_0	$\bar{E}_{abs.}/\text{Kern}$ Volum.	DNS	$\bar{E}_{abs.}/\text{Chromos.}$ ICV	DNS
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Tritic. monococc</i>	2n 14	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Tritic. durum Capetti</i>	4n 28	1,64	2,3	0,92	1,16	1,0	1,81	2,28	0,92	1,14
<i>Tritic. durum Capelli</i>	4n 28	1,80	2,2	0,70	1,13	0,96	1,58	2,16	0,79	1,08
<i>Tritic. aestiv. BastardII</i>	6n 42	2,0	2,7	0,68	0,90	3,9	7,9	10,0	2,64	3,50
<i>Tritic. aestiv. Waltheri</i>	6n 42	1,96	2,9	0,66	0,96	3,5	6,9	10,0	2,36	3,50
<i>Tritic. aestiv. Perco</i>	6n 42	1,60	2,8	0,54	0,95	2,62	4,3	7,4	1,40	2,40

Tabelle VII: Relativwerte verschiedener Zellparameter
und der D_0 -Werte von di-, tetra- und hexa-
ploiden Weizenarten.

In diesem Zusammenhang erhebt sich die Frage, inwie-
weit sich die abweichenden D_0 -Werte der verschiedenen
Weizenarten dem diskutierten Schema zuordnen lassen.
Sparrow betont verschiedentlich, daß der Anstieg der
Strahlenresistenz bei polyploiden Arten einer Verringe-
rung des Chromosomenvolumens zuzuschreiben sei. Auf die-
ser Basis lassen sich die Ergebnisse nicht interpre-
tieren. Es tritt wohl eine Verringerung des Chromosomen-
volumens auf, die aber die größere Energieabsorption,
auf die D_0 bezogen, für die hexaploiden Arten nicht ganz
erklären kann. Zudem kann auf der Basis des DNS-Gehaltes
kein Unterschied festgestellt werden. Der Faktor $E_{(abs.)}$
(diploid) / $E_{(abs.)}$ (hexaploid) beträgt jedoch 2,4 bis
3,5.

Berücksichtigen wir hier die im vorhergehenden Abschnitt aufgezeigten Inaktivierungsmechanismen, so kann man die Resistenzzunahme aus der Redundanz des genetischen Materials erklären.

Die di-, tetra- und hexaploiden Arten haben pro Chromosom etwa die gleiche DNS-Menge. Demzufolge werden bei ihnen pro Chromosom bei der gleichen Dosis eine gleiche Anzahl Läsionen induziert. Die Ereignisse, durch welche Gene inaktiviert werden, sind jedoch zufallsgemäß verteilt, und die Wahrscheinlichkeit, mit der alle Allele eines Gens infolge einer Ionisation ausfallen werden, ist bei den tetraploiden und hexaploiden geringer als bei den diploiden. V. Wangenheim (1970) zeigt bei diploiden und tetraploiden Oenothera- und Hordeumarten beim Vergleich der Wirkung ionisierender Strahlen, daß genetische Redundanz (Autopolyploidie) zu einer erheblichen Erniedrigung der Radiosensibilität führt.

Die Ergebnisse zeigen, daß innerhalb der Ploidiestufe auf der Basis nativen Gewebes und bei meristematischen Zellen die Unterschiede in der Strahlenempfindlichkeit sehr gering sind. Für *Triticum durum* Capelli und *Triticum durum* Aziziah wurden auch von Avanzi et al. (1966) keine signifikanten Unterschiede gefunden, obwohl hinsichtlich ICV und DNS-Gehalt kleinere Abweichungen bestehen.

Allerdings könnte auch die Struktur der DNS-Moleküle in polyploiden Zellen eine andere sein und einen Einfluß auf die Strahlenempfindlichkeit haben. Die veränderten Konzentrationswerte lassen dieses Argument nicht ganz unwesentlich erscheinen. Es wäre sehr wohl denkbar, daß der Proteinanteil größer ist, oder das Molekül enger geschlossen erscheint. Dies würde die Wahrscheinlichkeit für Radikalangriffe von außen erniedrigen. Darüber hinaus könnten Reparaturprozesse begünstigt ablaufen, weil Brüche in den DNS-Strängen so lange stabilisiert werden, bis eine Neusynthese oder Reparatur erfolgt.

Ein weiteres Argument scheint noch durch das Auftreten verschieden breiter Schulterbereiche gegeben. Sie deuten für die tetraploiden Arten Capelli und Capeiti ein größeres Kompensationsvermögen subletaler Schäden gegenüber der diploiden Art an, obwohl die D_0 nahezu konstant bleibt. Allerdings muß man hier eine Einschränkung des Vergleichs der Werte machen. Die hier untersuchten Weizenarten sind allopolyploid, d.h. ihre multiplizierten Genome stammen von verschiedenen Arten ab.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse, die umfassen erstmals Angaben über D_0 und Messungen verschiedener charakteristischer Größen meristematischer Zellen von Wurzeln höherer Pflanzen (insgesamt 16), zeigen einen Zusammenhang zwischen Strahlenempfindlichkeit ($\frac{1}{D_0}$) und zellulären Parametern und bestätigen Überlegungen anderer Autoren (insbesondere A.H. Sparrow), zur Systematisierung der Strahlenschädigung.

Ausgangspunkt für diese Arbeit war die Möglichkeit, mit Hilfe eines mathematischen Modells nach Bestrahlung exakte Überlebensraten von Pflanzenzellen in Wurzelmeristemen zu berechnen. Dazu wurden zunächst die täglichen Längenzunahmen sowohl nach Kurzzeitbestrahlung, als auch während der Dauerbestrahlung erfasst und mögliche charakteristische Abweichungen dieser Kurven in Zusammenhang mit zellulären Reaktionen diskutiert. Darüber hinaus wurden aus den Wachstumskurven Angaben über Wachstumsdepression und den Anteil überlebender Wurzeln - also Zellsysteme - gewonnen und ihre Dosisabhängigkeit geprüft.

Weiter wurde gezeigt, daß das ursprünglich für die Berechnung der Überlebensrate der Zellen bestrahlter Gerstenwurzeln entwickelte Modell auch auf andere Pflanzenarten übertragen werden kann. Die Schädigung der Initialzellen und die Reorganisation des Primordiums ist offenbar für die Berechnung des Anteils überlebender Zellen von untergeordneter Bedeutung. Mit Kenntnis der Mitosezykluszeit lassen sich aus den relativen Wachstumsraten die Überlebensraten der Meristemzellen berechnen und die Dosis-Effektkurven angeben. Sie zeigen nach Kurzzeitbestrahlung für die meisten Arten den typischen Verlauf von Mehrtreffbereichskurven ($\frac{N}{N_0} = 1 - (1 - e^{-\lambda D})^m$) mit unterschiedlichen "Schulterbereichen" und einem exponentiellen Teil, aus dem die D_0 bestimmt wurde. Sie variiert bei den untersuchten Pflanzenarten zwischen 25 und 600 rad.

Die Überlebenskurven nach Dauerbestrahlung haben einen exponentiellen Verlauf. Daraus lassen sich die Dosisleistungen (r/h) ermitteln, die notwendig sind, um unter Dauerbestrahlung 63 % der Zellen pro Zellzyklus abzutöten.

Außerdem wurden die zellulären Parameter (Kerngröße, DNS-Gehalt pro Zelle, Mitosezykluszeit) bestimmt und das Interphase-Chromosomenvolumen (ICV) und der DNS-Gehalt pro Chromosom berechnet. Mit zunehmendem DNS-Gehalt pro Chromosom steigt das Interphase-Chromosomenvolumen linear für die Zellen innerhalb der 16 Pflanzenarten an.

Zur Charakterisierung der zellulären Strahlenempfindlichkeit wurden die verschiedenen Parameter zueinander in Beziehung gesetzt. Dabei zeigt sich, daß die Strahlenempfindlichkeit der Meristemzellen von Pflanzenwurzeln linear mit ihrem Interphase-Chromosomen-Volumen bzw. dem DNS-Gehalt pro Chromosom ansteigt. Die Korrelation zwischen $1/D_0$ und Kernvolumen bzw. DNS-Gehalt pro Zelle zeigt nur für diploide Zellen eine signifikante Abhängigkeit. Die polyploiden Arten lassen sich dieser Geraden nicht zuordnen. Das bedeutet, daß das "Chromosom" oder auch die DNS-Molekülstruktur in ihm für die Ausprägung des Schadens eine individuelle und dominante Rolle spielt.

Zum Vergleich mit Literaturwerten wurden die entsprechenden Geraden in doppellogarithmischem Maßstab dargestellt und die Korrelationskoeffizienten angegeben (Tab. V).

Durch die formale Umwandlung der Dosis (rad) in absorbierte Energie lassen sich die pro Chromosom absorbierten Energiebeträge berechnen, die zur Inaktivierung der Zellen, auf die D_0 bezogen, notwendig sind. Ausgehend vom DNS-Gehalt pro Chromosom liegen sie bei 5-7 keV, auf das ICV bezogen bei 75 - 103 keV. Vergleicht man bei gleichem Schädigungsniveau die absorbierten Energiebeträge von Viren und Phagen, so liegen diese Werte

ungefähr um den Faktor 100 niedriger (0,2 - 0,6 keV) und zeigen, daß die höheren Pflanzenzellen auf die DNS-Menge bezogen sehr viel strahlenresistenter sind. Eine mögliche Erklärung ist in der unterschiedlichen DNS-Molekülstruktur und in der Fähigkeit zur "Reparatur" von strahleninduzierten Schäden in der DNS zu sehen.

Die folgende Diskussion zeigt, daß den Werten auf der Basis des DNS-Gehaltes berechnet größere Bedeutung zuzumessen ist. Darüber hinaus lassen sich über diese Werte Aussagen über die mögliche Anzahl von Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNS-Moleküle machen. Pro Chromosom können sich offenbar mehrere Einzel-, aber nur ein oder wenige Doppelstrangbrüche ereignen, bis der Verlust der Reproduktions- und Teilungsfähigkeit eintritt.

Diese Beziehung wurde auch für die Ergebnisse nach Dauerbestrahlung gefunden. Hier liegen jedoch die absorbierten Energien um den Faktor 5-6 höher. Diese erhöhte Resistenz könnte man einem Erholungs- oder Reparatursystems zuschreiben, das unter Dauerbestrahlung wirksam ist.

Ein Vergleich der Dosis-Effekt-Kurven von di-, tetra- und hexaploiden Weizenarten (Allopolyploidie) zeigt, daß offenbar mit Zunahme der Chromosomensätze eine Erniedrigung der Strahlenempfindlichkeit verbunden ist.

Die Angaben in Tabelle III und IV für *Vicia faba* wurden der Literatur entnommen, da diese Werte von verschiedenen Autoren geprüft und angegeben wurden. Sie liegen für das ICV zwischen $26/\mu^3$ und $43/\mu^3$ und für den DNS-Gehalt /Zelle zwischen $22,8 \cdot 10^{-12} \text{ g}$ und $60,5 \cdot 10^{-12} \text{ g}$ (Read, 1959; Holmes et al., 1955; Jensen, 1957; McLeish und Sunderland, 1961; Sparrow, 1966).

Diese Streuungen sind vorwiegend durch die verschiedenen Methoden zur Bestimmung dieser Werte bedingt, und sind von den Autoren angegeben. Aus den gleichen Gründen müssen unsere Angaben über ICV und DNS-Gehalt/Chromosom nicht unbedingt mit anderen Literaturangaben übereinstimmen. Darüber hinaus bestehen sortenspezifische Unterschiede.

Objekt	1 Chromosomenzahl (2n)	2 Mitose Zykluszeit (h)	3 Interphase Kernvolumen (μ^3)	4 Interphase Chromosomenvolumen (μ^3)	5 DNS-Gehalt pro Zellein (A.E.) (10^{-12} g)	6 DNS-Gehalt pro Chromosom (A.E.) (10^{-12} g)
<i>Pinus strobus</i>	24	25,4	1256,5 ± 37,4	52,4 ± 1,5	102,7 ± 11,2	84,0 ± 7,2
<i>Allium porrum</i>	32	18	1109,3 ± 20	34,86 ± 0,9	165,5 ± 6,6	51,7 ± 2,37
<i>Vicia faba</i>	12	18	3770	31,4	228,00	1,9
<i>Triticum monococcum</i>	14	10	327,1 ± 12,8	23,3 ± 0,9	37,1 ± 1,5	2,65
<i>Triticum durum Capelli</i>	28	10,5	537,1 ± 25,6	19,2 ± 0,9	84,0 ± 3	3,0
<i>Triticum durum Capelli</i>	28	10,5	591,3 ± 18,6	21,2 ± 0,7	84,8 ± 3,6	3,03
<i>Secale cereale</i>	14	18,5	286,4 ± 8,3	20,5 ± 0,5	51,7 ± 2,4	3,7
<i>Triticum aestivum Bastard II</i>	42	18,5	659,4 ± 28,5	15,7 ± 0,6	99,0 ± 6,2	4,55
<i>Triticum aestivum Waltheri</i>	42	18,5	640,2 ± 31,5	15,2 ± 0,6	108,4 ± 4,2	4,88
<i>Triticum aestivum Perso</i>	42	18,5	525,0 ± 28,2	12,5 ± 0,7	104,4 ± 4,5	4,80
<i>Hordeum vulgare</i>	14	18	186,4 ± 3,3	11,9 ± 0,3	22,3 ± 1,0	10,3
<i>Avena sativa</i>	42	15	439,3 ± 12,0	10,5 ± 0,3	84,9 ± 2,9	3,65
<i>Zea mays Asilo Pioner 396</i>	20	28	103,2 ± 4,1	5,16 ± 0,2	8,3 ± 1,8	8,4
<i>Brassica campestris Rübsen</i>	20	10	41,8 ± 1,89	2,0 ± 0,1	2,9 ± 1,2	1,34
<i>Oryza sativa</i>	24	6	41,0 ± 3,2	1,8 ± 0,2	2,3 ± 0,4	10,5
<i>Cucurbita pepo</i>	40	6	91,0 ± 11,2	2,28 ± 0,3	5,8 ± 1,05	2,66
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16	12		0,04		0,05

Tabelle III. Zusammenstellung der zellulären Parameter: Chromosomenzahl, Mitosezykluszeit, Kernvolumen, Interphase-Chromosomen-Volumen, DNS-Gehalt pro Kern und DNS-Gehalt pro Chromosom

1: Miksche (1967) ; ++: Howard (1963)

2: Werte für Zellzyklus wurden experimentell bestimmt

3: Clowes (1963)

+: Miksche (1967) ; oo : Read (1959)

o: Read (1959) ; für *Saccharom. cerev.* wurde der DNS-Gehalt bestimmt, der Wert für das ICV und die Chromosomenzahl nach Sparrow et al. (1967) angegeben.

Objekt	Extrapola- tionszahl (n)	D = 9 (rad)	D 50 ¹⁰ (g min) (rad)	D 50 ¹¹ (S.f. Wurzeln) (rad)	E (abs) ¹² pro Zellkern (MeV)	E (abs) ¹³ pro DNS-Geh. /Kern (keV)	E (abs) ¹⁴ pro ICV (keV)	E (abs) ¹⁵ pro DNS-Geh. /Chrom. (keV)
Pinus strobus	13,4	25 ± 4	80	85	1,89	131,0	78,8 ± 12,6	5,5 ± 0,8
Allium porrum	1,0	220 ± 15	370	540	14,7	1044,7	458,0 ± 31,3	23,3 ± 1,8
Vicia faba	2 - 5	55(40-70)	80 - 167 +	435 +	1,2	78,2	103,9 ± 28,3	6,5 ± 1,8
Triticum monococcum	1,0	85	165 ± 12	250	1,28	89,4	91,4	4,8
Triticum durum Capelli	4,8	62,5 ± 25	235 ± 15	475	2,02	150,5	72,2 ± 2,8	5,3 ± 0,2
Triticum durum Capelli	5,8	85 ± 0	260	525	2,31	158,2	82,8 ± 0	5,6 ± 0
Secale cereale	3,0	70 ± 8	280 ± 20	495	1,29	111,4	92,8 ± 9,8	7,9 ± 0,8
Triticum aestivum Bastard II	3,8	255 ± 15	855 ± 35	1060	10,12	724,0	241,0 ± 14,2	17,2 ± 1,0
Triticum aestivum Walthari	2,2	230	570		8,86	714,7	270,5	18,9
Triticum aestivum Perso	3,8	170 ± 43	406 ± 30	725	5,4	508,2	127,8 ± 3,8	12,1 ± 0,4
Hordeum vulgare	5,2	130 ± 10	325	1090	1,3	83,8	93,2 ± 7,2	5,8 ± 0,5
Avena sativa	7,3	180 ± 31	620	840	4,8	433,6	113,7 ± 19,6	10,2 ± 1,8
Zea mays Asilo Pioneer 396	1,9	270 ± 18	490	1800	1,86	141,5	83,9 ± 5,8	7,1 ± 0,5
Brassica campestris Rüben	4,5	600 ± 25	2,4 kr	5500	1,50	50,2	72,2	2,5 ± 0,1
Oryza sativa	9,0	500	2,34 kr	2600	1,33	32,8	54,2	1,4
Cucurbita pepo	2,8	515 ± 35	1,5 kr	2600	2,8	85,5	70,7 ± 4,7	2,2 ± 0,2
Secotiummops corewisiae	1,8	20 kr			1,4	62,4	48,0	2,1

Tabelle IV: Zusammenfassung der charakteristischen Werte der Überlebenskurven aus Abb. 9, 10 und 11, und der daraus resultierenden Werte für die absorbierte Energie.

Die Werte für Vicia faba wurden aus der Literatur entnommen.

+ : Read (1959) ; Gray und Scholes (1951)
o : Hall et al. (1962)

Anhang I

Folgende statistische Methoden wurden zur Prüfung der Signifikanz der Aussagen und zur Berechnung der Streubreiten benutzt:

- I . Die Mittelwerte der Kerngrößen, der DNS-Mengen pro Kern und die täglichen Längenzunahmen der Pflanzenwurzeln wurden aus mehreren Einzelwerten (20- 60 bei den Längenmessungen; 100 - 160 bei den Zellparametern) berechnet und ihre Streuung nach

$$S_E = \sqrt{\frac{(\sum x_i^2 - n\bar{x}^2)}{n(n-1)}} \quad \text{angegeben.}$$

Für den mittleren relativen Fehler der Mittelwerte der täglichen Wachstumsrate ergibt sich daraus:

$$S_{E(\text{rel})} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} = \frac{S_E}{\bar{x}}$$

In erster Näherung gilt für den relativen Fehler des zusammengesetzten Ergebnisses

$$\frac{\Delta R}{R} = \sqrt{\left(\frac{S_{E_1}}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{E_2}}{x_2}\right)^2}$$

und für die Streuung des Gesamtergebnisses :

$$\Delta R = R \sqrt{\left(\frac{S_{E_1}}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{E_2}}{x_2}\right)^2}$$

- II . Korrelationskoeffizient: Durch den Korrelationskoeffizient wird die Abhängigkeit zwischen zwei Merkmalen sichergestellt . Er beträgt bei fehlender Beziehung 0 und bei streng linearer Abhängigkeit 1 (-1) . Dies bedeutet, daß der Wert des einen Merkmals (y) durch

den der anderen Variablen (x) in sehr hohem Maße mitbestimmt wird.

$$r = \frac{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{(x_i - \bar{x})^2 \cdot (y_i - \bar{y})^2}}$$

III . Regressionsgerade: Die Art der Abhängigkeit (es wurden nur lineare Regressionen geprüft) und die best - mögliche Gerade ($y = a + bx$) lassen sich über die Berechnung des Regressionskoeffizienten und der Regressionsgeraden angeben :

$$\text{Regressionskoeffizient : } b = \frac{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(x_i - \bar{x})^2}$$

Daraus läßt sich nach $a = \bar{y} - b\bar{x}$ a berechnen und die Gerade $Y = a + bX$ darstellen.

Die Streuung bzw. Standardabweichung der Geraden ergibt sich zu :

$$s_{y/x}^2 = \frac{1}{n-2} \left(\sum (y_i - \bar{y})^2 - \frac{[\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \right)$$

Anhang II

Im Anhang II werden einige Angaben zur Berechnung der Zellüberlebensrate nach Kurzzeitbestrahlung gezeigt. Der erste Teil zeigt zunächst das geänderte Programm für die ZUSE Z 23.

```

U1020U -1'1'1'5'5'2'3'-1'
U1950U ; G[1] S[1] GAM[1] S 1 = S
; 0
U1047U B10+1052 E0+105 B10+1053 E0+105 E3100 U200 U1000
U3100U F1002 CWS7 FB52 B1900 HD2 F1002 F1002 B1950 HD2 F1002 E3000
U3000U CKR13+65 BV13+2000 E34
U2000U 1 CKR20+3999 CKR21+0 B33 U20 CKR23+0 CKR22+109
CKR22+1 PP222100 GU20+1 CS2 U30 CS1 11 B33 + 4 B33 + B30 X GU20+2 U27
B29 U6 B33 + U20 B27 CA1 U6 B29 - B20 X B20 : PP20CA1 CS1 U11 B33 U6 B11 -
U26 B27 U29 B33 U6 B21 - B26 X GU20+3 B21 + U21 GU20+4 U11 B33 U6 B11 -
CGU20+5 CKS23+5 E40
U2100U CKR20+3999 CBB20+1 D2 CKAAMEZJ 223+2101 Z0+1 ***** Z0+1E *****

```

Abb. 1 Anhang II. Programm zur Berechnung der Zellüberlebensrate nach Kurzzeitbestrahlung aus den Werten der relativen Wachstumsrate für die ZUSE Z 23

In den folgenden Schriftbildern sind die verschiedenen Werte angegeben, die zur Berechnung der Überlebensrate aus den Werten der relativen Wachstumsrate (auf dem Schriftbild wird die Abb. genannt) pro Mitosezyklus gewonnen werden können.

Das Schriftbild I zeigt den Anteil der überlebenden Zellen für *Triticum durum* Capeiti nach 600 rad. Auch nach Durchlaufen des Minimums der relativen Wachstumsrate werden noch Zellen ausgeschieden (Spalte 3). Der Anstieg der Wachstumskurve hat auf den Anteil überlebender Zellen einen geringen Einfluß.

Es bedeuten $G(I)$: Wert der relativen Wachstumsrate
pro Mitosezykluszeit
 $S(I)$: Anteil integrierter Zellen
 $GAM(I)$: Anteil pro Zyklus ausgeschiedener Zellen
 S : Summe insgesamt ausgeschiedener Zellen
 $1-S$: Anteil überlebender Zellen

Das Schriftbild II zeigt analog I die entsprechenden Werte für Roggen. Bei längerer Zykluszeit werden pro Zyklus am Beginn sehr viel mehr Zellen (%) ausgeschieden als bei kurzer Zykluszeit, obwohl der Abfall der Wachstumskurve ungefähr gleich ist.

Das Schriftbild III ist analog I und II zu sehen, wobei die relative Wachstumskurve das Minimum nur langsam durchläuft. Dies muß bei dieser hohen Dosis einer Regeneration des Meristems aus wenigen Zellen (z.B. "quiescent center") zugeschrieben werden.

Darüber hinaus ist zu ersehen, daß bei Erreichen des Minimums fast alle letal geschädigten Zellen ausgeschieden sind. Die Konstanz der Längenzunahme täuscht eine konstante Ausscheiderate vor, ist aber der Tatsache zuzuschreiben, daß sich die Zellen nach Bestrahlung zwar nicht mehr teilen, aber noch ausdifferenzieren können.

400 RAD

GEI	SEI	GAFFI	S	1 - S
0.0000	0.02571	0.14859	0.14859	0.85141
0.76000	0.83506	0.10219	0.34677	0.65323
0.55000	0.67963	0.27953	0.62630	0.37370
0.40000	0.55226	0.17472	0.79502	0.20498
0.30000	0.46949	0.09606	0.90109	0.10091
0.23000	0.40146	0.05209	0.94317	0.05683
0.17000	0.33713	0.02977	0.97204	0.02796
0.14000	0.30188	0.01275	0.98569	0.01431
0.10000	0.24836	0.00213	0.98782	0.01218
0.27000	0.44107	-0.00040	0.98741	0.01259
0.47000	0.61630	-0.00369	0.98373	0.01627
0.73000	0.81362	-0.00530	0.97843	0.02157
1.00000	1.06596	-0.01012	0.97230	0.02770
1.16000	1.10492	-0.00344	0.96486	0.03514
1.12000	1.07900	-0.00011	0.96476	0.03524

Schriftbild I zu Abb. 8 e

400 RAD

GEI	SEI	GAFFI	S	1 - S
0.97000	0.97993	0.04014	0.04014	0.95986
0.75000	0.82793	0.30441	0.34455	0.65545
0.47000	0.61630	0.36264	0.70719	0.29281
0.30000	0.46949	0.16891	0.87611	0.12389
0.23000	0.40146	0.05925	0.93535	0.06465
0.25000	0.42154	0.01482	0.95017	0.04983
0.34000	0.50598	0.00022	0.95039	0.04961
0.47000	0.61630	-0.00404	0.94635	0.05365
0.58000	0.70270	-0.00186	0.94449	0.05551
0.85000	0.89818	-0.01804	0.92645	0.07355
0.96000	0.98664	-0.01001	0.91645	0.08355

Schriftbild II zu Abb. 8 g

NR 5

G[1]	SE[1]	GAM[1]	S	1 - S
0.92000	0.94617	0.10766	0.10766	0.89234
0.84000	0.89125	0.12482	0.23248	0.76752
0.76000	0.83506	0.13325	0.36573	0.63427
0.68000	0.77737	0.13271	0.49845	0.50155
0.70000	0.79195	0.03911	0.53756	0.46244
0.71000	0.79920	0.04052	0.57808	0.42192
0.72000	0.80642	0.03550	0.61358	0.38642
0.73000	0.81362	0.03117	0.64476	0.35524
0.68000	0.77737	0.06181	0.70656	0.29344
0.63000	0.74043	0.05745	0.76401	0.23599
0.58000	0.70270	0.05156	0.81557	0.18443
0.54000	0.67187	0.04119	0.85676	0.14324
0.49000	0.63241	0.03756	0.89433	0.10567
0.45000	0.60000	0.02826	0.92259	0.07741
0.40000	0.55826	0.02410	0.94669	0.05331
0.36000	0.52370	0.01692	0.96361	0.03639
0.33000	0.49700	0.01150	0.97510	0.02490
0.31000	0.47876	0.00763	0.98273	0.01727
0.29000	0.46013	0.00549	0.98823	0.01177
0.26000	0.43137	0.00425	0.99248	0.00752
0.26000	0.43137	0.00214	0.99462	0.00538
0.25000	0.42154	0.00171	0.99632	0.00368
0.25000	0.42154	0.00106	0.99739	0.00261
0.25000	0.42154	0.00076	0.99814	0.00186
0.26000	0.43137	0.00048	0.99862	0.00138
0.28000	0.45066	0.00030	0.99892	0.00108
0.30000	0.46949	0.00023	0.99915	0.00085
0.32000	0.48792	0.00018	0.99933	0.00067
0.31000	0.47876	0.00019	0.99952	0.00048
0.31000	0.47876	0.00013	0.99964	0.00036
0.30000	0.46949	0.00010	0.99975	0.00025
0.30000	0.46949	0.00007	0.99981	0.00019
0.37000	0.53245	0.00001	0.99983	0.00017
0.44000	0.59177	0.00001	0.99984	0.00016
0.51000	0.64832	0.00001	0.99985	0.00015
0.58000	0.70270	0.00001	0.99985	0.00015
0.63000	0.74043	0.00001	0.99986	0.00014
0.68000	0.77737	0.00001	0.99987	0.00013
0.73000	0.81362	0.00000	0.99987	0.00013
0.78000	0.84924	0.00000	0.99987	0.00013
0.84000	0.89125	-0.00000	0.99987	0.00013
0.89000	0.92571	-0.00000	0.99987	0.00013
0.94000	0.95972	-0.00000	0.99986	0.00014
0.96000	0.97321	-0.00000	0.99986	0.00014
1.00000	1.00000	-0.00001	0.99986	0.00014

Anhang III

I. Bestimmung der Überlebensrate bei Dauerbestrahlung.

Das von Kiefer (1965) entwickelte Modell zur Kinetik der Meristemzellen nach Bestrahlung sieht für die Dauerbestrahlung vor:

$$\frac{dS}{dt}(t) = \frac{2akS(t - \frac{S(t - \frac{S(t - \frac{S(t - \dots}{So})}{So})}{So})}{1 + \frac{S(t - \frac{S(t - \frac{S(t - \dots}{So})}{So})}{So}} - aS(t) \quad 1$$

Dabei bezeichnen:

S : Zahl der Zellen im Meristem z.Zt. t ("Meristemgröße")

So : Sollzahl, Normalzahl der Meristemzellen

k : Überlebensrate; (1 - k) Zellen, die pro Zyklus absterben.

Außerdem wird eine Voraussetzung zur Regelung der Meristemgröße und deren quantitative Beschreibung notwendig, die angibt, wie sich das Verhältnis von sich teilenden und streckenden (differenzierenden) Zellen unter Bestrahlung ändert.

$$\frac{dT}{dt} = \frac{So}{S} \cdot \frac{DD}{dt} \quad 2$$

$$\frac{dT}{dt} + \frac{DD}{dt} = aS \quad 3$$

$\frac{dT}{dt}$: Zahl der sich pro Zeiteinheit teilenden Zellen

$\frac{DD}{dt}$: Zahl der sich pro Zeiteinheit streckenden Zellen

Für den Gleichgewichtszustand, entweder im ungestörten System oder im Endwert der Dauerbestrahlung (Abb. 15) ist

$$\frac{dS}{dt} = 0 \quad \text{und} \quad S(t - \tau) = S(t).$$

Damit ergibt sich für die Gleichung (1)

$$\lim_{t \rightarrow \infty} S(t) = S_0 (2k - 1) \frac{S}{S_0} (t) = 2k - 1$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} S(t) = 0$$

Gemessen wird aber die Wachstumsrate, die $\frac{dD}{dt}$ proportional ist. Über die Gleichung (2) und (3) läßt sich eine Beziehung zwischen $\frac{dD}{dt}$ und $\frac{S}{S_0}$ angeben.

Aus 1 und 2 folgt

$$\frac{dD}{dt} = \frac{aS}{(1 + \frac{S_0}{S})} = \dot{D}$$

Für das ungestörte System gilt

$$\dot{D}_0 = \frac{dD_0}{dt} = \frac{aS_0}{2}$$

$$\frac{[\dot{D}]}{[\dot{D}_0]} = \frac{aS}{(1 + \frac{S_0}{S})} \cdot \frac{2}{aS_0} = \frac{1}{2} \cdot \frac{S}{S_0} \cdot \frac{1}{1 + \frac{S_0}{S}}$$

$$\frac{[\dot{D}]}{[\dot{D}_0]} = a \quad \text{und} \quad \frac{S}{S_0} = x$$

$$a = \frac{1}{2} x \cdot \frac{1}{1 + \frac{1}{x}}$$

$$2x^2 - ax - a = 0$$

$$2k - 1 = X_{1/2} = \frac{a \pm \sqrt{a^2 + 8a}}{4}$$

$$k = \frac{1}{2} \pm \frac{a \pm \sqrt{a^2 + 8a}}{8}$$

Damit lassen sich die relativen Werte für die pro Zykluszeit überlebenden Zellen berechnen und die Abb. 16 angeben.

Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1 S. 6 Reaktionsphasen der Strahlenwirkung
- Abb. 2 S. 14 Schematischer Aufbau einer Gramineen -
Wurzel
- Abb. 3 S. 15 Anordnung der Zellen im Wurzelmeristem
- Abb. 4a S. 19 Anordnung der Pflanzen im thermostati -
sierten Kulturgefäß nach Einzeitbestra-
lung
- Abb. 4b S. 20 Analog 4a, während der Dauerbestrahlung
- Abb. 5a S. 23 Bestrahlungsanordnung
- Abb. 5b S. 23 Anordnung der Keimpflanzen zur Kurz-
zeitbestrahlung
- Abb. 6 S. 27 Korrelation zwischen Interphase-Chromo-
somen- Volumen und DNS-Gehalt pro
Chromosom
- Abb. 7 S. 30 Abhängigkeit zwischen Mitosezykluszeit
und Interphase-Chromosomen-Volumen
- Abb. 8 S. 8a - 8p
32-37 Relative Wachstumskurven der Pflanzen-
wurzeln nach Kurzzeitbestrahlung
- Abb. 9 S. 9a - 9n
41-45 Berechnete Überlebenskurven der Meris-
temzellen verschiedener Pflanzenarten
- Abb. 10 S. 10a - 10e
47-48 Minimum der Werte der täglichen Längen-
zunahme in Abhängigkeit von der Dosis
- Abb. 11 S. 50-51 Anteil überlebender Pflanzenwurzeln
in Abhängigkeit von der Dosis
- Abb. 12 S. 54 Einfluß der Mitosezykluszeit auf die
Berechnung der Überlebensraten der Zellen
- Abb. 13 S. 56 Einfluß verschieden langer Erholungspha-
sen auf die Überlebensraten

- Abb. 14 S. 58 Schema zum Teilungsverhalten des Meristems bei *Triticum durum* Capelli nach Regeneration des Meristems
- Abb. 15 S. 59-60 Relative Wachstumskurven nach Dauerbestrahlung
- Abb. 16 S. 63 Überlebenskurven der Meristemzellen nach Dauerbestrahlung
- Abb. 17a S. 70 Korrelation zwischen Strahlenempfindlichkeit und Kernvolumen
- Abb. 17b S. 70 Analog 17a .. und DNS-Gehalt pro Zelle
- Abb. 18 S. 71 Abhängigkeit der D_0 vom Interphase- Kernvolumen (log- log Darst.)
- Abb. 19 S. 72 Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit vom Interphase- Chromosomen-Volumen
- Abb. 20 S. 73 Analog 19 ..log log Darstellung
- Abb. 21 S. 74 Korrelation zwischen Strahlenempfindlichkeit und DNS-Gehalt pro Chromosom
- Abb. 22 S. 75 Korrelation der D_0 -Werte und dem Interphase- Chromosomen-Volumen -ergänzt durch weitere Werte aus Literaturangaben
- Abb. 23 S. 77 Angabe der verschiedenen Radiotaxa nach Sparrow (1967)
- Abb. 24 S. 78 Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit vom Interphase- Chromosomen-Volumen unter Dauerbestrahlung
- Abb. 25 S. 89 Überlebenskurven für di-, tetra- und hexaploide Weizenarten

Verzeichnis der Tabellen	Seite
I. Untersuchte Pflanzenarten	17
II. Zusammensetzung der verwendeten Nährlösung der Spurenelemente	20
III. Zusammenfassung der Werte für Kernvolumen, Interphase-Chromosomen-Volumen(ICV), DNS-Ge- halt, Chromosomenzahl und Mitosezykluszeit (Seite 31) und	96
IV. Zusammenstellung der charakteristischen Werte für die Beschreibung der Strahlenempfindlich- keit und den daraus resultierenden Werten für die Energieabsorption nach Kurzzeitbestrahlung. Auf Seite 68 und auf ...	97
V. Mittelwerte der absorbierten Energiebeträge	76
VI. Werte für die Dosisleistung ($\dot{R}/h$) , die D_{37} und die absorbierte Energie nach Dauerbe- strahlung	80
VII. Relativwerte verschiedener Zellparameter und der Bestrahlungsdosen polyploider Weizenarten im Verhältnis zur diploiden Art <i>Triticum mono-</i> <i>coccum</i>	90

Literaturverzeichnis

- Adams, G.E. and M.S.Cook: Electron- affinic- sensitization I. A structural basis for chemical radiosensitizers in bacteria.
Int.J. Rad.Biol. 15,457-471(1969).
- Alper, T., N.E.Gillies and M.M.Elkind: The sigmoid survival curve in radiobiology.
Nature 186, 1062- 1063 (1960).
- Avanzi, S., A.Brunori and B.Giorgi: Radiation response of dry seeds in two varieties of Triticum durum, Mut.Res. 3,426-437(1966).
- Beck, E.M. and P.Alexander: Fundamentals of Radiobiology⁽¹⁹⁶¹⁾.
- Baetcke, K.P., A.H.Sparrow, C.H.Naumann and S.S.Schwemmer: The relationship of DNA content to nuclear and Chromosome volumes and to radiosensitivity(LD₅₀). Proc.natl.Acad.Sci. 58,533-540 (1967).
- Barendsen, G.W.: Dose survival curves of human cells in tissue culture, irradiated with alpha-, beta-, 20kV X- and 200kV gamma rays
Nature 193, 1153-1155(1962).
- Berry, R.J. and A.B.Cohen: Some observations on the reproductive capacity of mammalian tumor cells exposed in vivo to gamma radiation at low dose-rates.
Brit.J.Radiol. 35,489-491 (1962).
- Beukers, R. and W.Berends: Biochem.Bioph.Acta 41,550(196C).
- Blau, M. und K.Altenerburger: Über einige Wirkungen von Strahlen II - Z.Physik 12, 315- 327(1922).
- Block, J: Lethal and mutagenic action of gamma -rays on Bacteriophage DNA
in Rad. Res. Ed.G.Sifini. North Holl.(1967).
- Böhm, H. und Sandritter, W.: Acta Histochem. Sammelbd.(1965).
- Bostrack, J.M. and A.H.Sparrow: The radiosensitivity of Gymnosperms.II.
Rad. Botany 10,131 -143(1970).
- Boyce, R.P. and Tepper, M.: Virology 34, 344 (1968).
- Boyle, W.S.: Effect of type and level of polyploidy on radiosensitivity.
J.Heredity 59,151- 154 (1968).
- Caspersen, T: Die Quantitative Bestimmung von Thymonucleinsäure mittels fuchsin-schwefliger Säure.
Biochem.Zeitschr. 253,97-111(1932).

- Clowes, F.A.L.: Cell development and differentiation in root apices. Proc. IX. Int. bot. Cong. 3 (1961).
- Clowes, F.A.L.: The quiescent center in meristems and its behaviour after irradiation. Brookh. Symposia Biol. 16 (1963).
- Clowes, F.A.L. and E.J. Hall: The quiescent center in root meristems of *Vicia faba* and its behaviour after acute X-irradiation and chronic gamma irradiation. Rad. Bot. 3, 45-53 (1963).
- Conger, A.D.: The relation of interphase Chromosome Volume (ICV) to an estimated actual chromosome volume. Int. J. Rad. Biol. 17, 381-384 (1970).
- Coquerelle, Th., L. Böhme, U. Hagen u. J. Merkwitz: Strahlenempfindlichkeit von Bakteriophagen - DNS I. Brüche und Vernetzungen nach Bestrahlung in vitro. Z. f. Naturf. 24b, 885-893 (1969).
- Corry, P.M. and Cole, A.: Radiation induced double-strand scissions of the DNA of mammalian Metaphase Chromosomes. Rad. Res. 36, 528-543 (1968).
- Crowther, J.A.: Some considerations relative to the action of X-rays on tissue cells. Proc. roy. Soc. B96, 207 (1924).
- Dalrymple, G.V., J.L. Sanders, A.J. Moss, M.C. Baker and K.P. Wilkinson: Radiation produces breaks in L Cells and Mouse liver DNA. characterized by 5' Phosphoryl termini. Biochem. Biophys. Res. Comm. 35, 300 (1969).
- Davern, C.J.: Isolation of DNA E.c. chromosomes in one piece. Proc. natl. Ac. Sci. 55, 792-797 (1966).
- Dertinger, H. u. H. Jung: Molekulare Strahlenbiologie (1969).
- Dessauer, F.: Über einige Wirkungen von Strahlen I: Z. Physik 12, 38-51 (1922).
- Ebert, M. and D.H. Barber: Int. J. Rad. Biol. 3, 587-594 (1961).
- Elkind, M.M. and Kamper, C.: Two forms of repair of DNA in mammalian cells following irradiation. Biophys. J. 10, 237-245 (1970).
- Eppstein, H.T.: Identification of Radiosensitive volume with nucleic acid volume. Nature 171, 394-395 (1953).
- Evans, H.J. and A.H. Sparrow: Nuclear factors affecting radiosensitivity II: Brookh. Symp. Biol. 14 (1961).
- Feldmann, A.: Beiträge zur Strahlenstimulation I. Versuch zu einer Reproduktion von Stimulationserscheinungen bei *Lemna minor*. Rad. Bot. 8, 425-437 (1968).
- Freifelder, D.: DNA -strand breakage by X-irradiation. Rad. Res. 29, 329-338 (1966).
- Fricke, H. und S. Morse: Die Verwendung der Oxydation einer verdünnten Ferrosulfatlösung als Eichungsmaß der Röntgenstrahlendosis. Strahlentherapie 26, 757 (1927).

- Geißler, L.: Chromosomenbau. Bornträger Berlin (1938).
- Glubrecht, H. und Schouermann, W.: Strahlenwirkungen ionisierender Strahlen. Fortschr. Bot. 30, 150-168 (1968).
- Gray, L.H. and E.M. Scholes: The effect of ionizing radiations on the broad bean root VIII Growth rate studies and histological analyses. Brit. J. Radiol. 24, 82-92, 176-180, 228-236, 285-291, 348-352 (1951).
- Grundmann, E.: Allgemeine Cytologie. Thieme Verlag (1964).
- v. Guttenberg, H.: Grundzüge der Histogenese höherer Pflanzen I Angiospermen : II Gymnospermen. Bornträger, Berlin (1960).
- Hagen, J. (2) und M. Ullrich (1): Über die Strahlenempfindlichkeit der Wasserst. br. in DNA. Z. f. Naturf. 23b.
- Hale, A.J.: Feulgen mikrospektrometrie and its correlation with other cytochemical methods. in: Introduct. to Quantitativ Cytoch. Academic Press, 83-199 (1966).
- Hall, E.J.: Dose response relationship for reproductive integrity of *Vicia faba* deduced from protacted irradiation experiments. Rad. Res. 20, 195-202 (1963).
- Hall, E.J., L.G. Lajtha and R. Oliver: X-ray dose response relationship for reproductive integrity of *Vicia faba*. Brit. J. Radiol. 35, 388-397 (1962).
- Harm, W., H. Harm and C.S. Ruppert: Analyses of Photoenzymatic repair of UV lesions in DNA by single light flashes II in vivo studies with E.c. cells and Bacteriophage. Mut. Res. 6, 371-385 (1968).
- Haynes, R.H.: Reciprocal sensitization of E.c. by ionizing and UV radiation. Rad. Res. 16, 562-563 (1962).
- Haynes, R.H.: The interpretation of microbial inactivation and recovery phenomena. Rad. Res. Supplm. 6 (1966).
- Heitz, E.: Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 47, 274-284 (1929).
- Hornsey, S.: The effect of X-irradiation on the length of the mitotic cycle in *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 11, 340-345 (1956).
- Holmes, B., L. Mee, Hornsey, S. and L. Gray: Exptl. Cell Res. 8, 101 (1955).
- Hug, O. und Kellerer, A.M.: Stochastik der Strahlenwirkung. Springer Verlag, 1966.
- Humphrey, R.M., D.L. Steward and B.A. Sedita: Mut. Res. 6 459 (1968).
- Ischikawa, S. and A.H. Sparrow: Radiation induced loss of reproductive integrity in the stamen hairs of *Tradescantia Blossf.*, atwelve-ploid species. Rad. Bot. 7 333-345 (1967).

- Jensen, W.A.: The nucleic acid and protein content of root tip cells of *Vicia faba* and *Allium cepa* Exptl. Cell Res. 14, 575-583 (1958).
- John, B. and K.R. Lewis: The Chromosome Cycle . in : Protoplasmatologia VI B , 1969.
- Johnson, C.D. and T.B. Rymer: Existence of collective- excitation energy losses from electron beam passing through biological material. Nature 213, 1045-1047 (1967).
- Kaplan, H.S., K.C. Smith and P.A. Tomlin: Effect of halogenated Pyrimidines of radiosensitivity of E.c. Rad. Res. 16, 98-113 (1962).
- Kaplan, H.S. and R. Zavarine: Correlation of Bacterial radiosensitivity and DNA-base composition. Biochem. Biophys. Res. Comm. 8, 432-436 (1962).
- Kaplan, H.S. and L.E. Moses: Biological complexity and Radiosensitivity. Science 145, 21-25 (1964).
- Kaplan, H.S.: DNA-strand scissions and loss of viability after X-irradiation of normal and sensitized Bacterial cells . Proc. Natl. Ac. Sc. 55, 1442-1446 (1966).
- Kaufmann, B.P., H. Gay and M.R. McDonald: Organisational patterns within Chromosomes. Int. Rev. Cytology 9, 77-127 (1960).
- Kiefer, J.: Dissertation , 1965
- Kiefer, J.: X-ray effects on barley roots I continuous exposure. Int. J. Rad. Biol. 10, 379-390 (1965).
- Kiefer, J.: X-ray effects on barley roots II single and fractionated exposure. Int. J. Rad. Biol. 11, 373-382 (1966).
- Kiefer, J.: Habilschrift 1970, Naturwiss. Fakultät.
- Knapp, E., A. Reuss, O. Risse und H. Schreiber: Quantitative analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen UV-Lichtes. Naturwiss. 27, 304-313 (1939).
- Kuzin, A.M.: - zit. nach Evans, H.J. and A.H. Sparrow, 1961
- Lange, C.S.: Studies on the cellular basis of radiation lethality. V. A survival curve for the planarian neoplast and the effect of polyploidy on the radiation response. Int. J. Rad. Biol. 15, 51-64 (1969).
- Laskowski, W.: Inaktivierungsversuche mit homozygoten Hefestämmen verschiedenen Ploidiegrades. Z. f. Naturf. 17b, 93-108 (1962).
- Lea, D.E.: Actions of radiations on living cells. 2nd (1962).
- Lett, J.T., Caldwell, J., C.J. Dean and P. Alexander: Rejoining of X-ray induced breaks in the DNA of Leukaemia cells. Nature 214, 790-792 (1967).
- McGraw, R.A. and R.W. Williams: Reconstruction in vivo of irradiated E.c. DNA ; the rejoining of broken pieces. Nature 212, 534-535 (1966).

- McLeish, J. and N.Sunderland: Measurements of DNA in higher plants by Feulgen-photometrie and chemical methods. *Exptl.Cell Res.* 24,527 -540(1961).
- Miksche, J.P.: Radiobotanical Parameters of *Pinus banksiana*. *Naturwiss.* 54,322 (1967).
- Miksche J.P.: Variation in DNA-content of several gymnosperms. *Can. J. Gen.Cytol.* 9,717-722 (1967).
- Miller,M.W.: The radiosensitivity of three pairs of diploid and tetraploid species: correlation between nuclear and chromosomal volume,Roentgen exposure and energy absorption per Chromos. *Rad.Bot.*10,273(1970).
- Mottram,J.C.: Variations in the sensitivity of the cell to radiation in relation to mitosis. *Brit.J.Radiol.* 8, 643 -651(1935).
- Nayar,G.G. and A.H.Sparrow.: Radiation induced somatic Mutations and the loss of reproductive integrity in *Tradesc. Stammen hairs*. *Rad. Bot.* 7,257-267(1967).
- Painter,R.B.: Repair of DNA in mammalian cells. *Current Topics in Rad. Res. Quarterly* 7,45-70(1970).
- Pollard, E.C.: *Rev.Mod. Physics* 31, 273 (1959).
- Pollister,A.W.: Nucleoproteins of the nucleus *Exptl. Cell Res.* 2,59 - 74(1952).
- Pohlitz, W.: Kybernetische Untersuchungen zur Strahlen - wirkung auf Hefezellen II Induktion von Lag zeit n und Entwicklung von Riesenzellen nach Röntgenbestr. *Biophysik* 2, 140-145(1966).
- Rauth, A.M. and J.A. Simpson: The energy loss of electrons in solids . *Rad. Res.* 22, 643 -661(1964).
- Read,J.: *Radiation Biology of Vicia faba in relation to the general problem.* Oxford ,1959.
- Ruppert,C.S. and W.Harm: Reactivation of photobiological damage . in : *Advanc. in Rad. Biol. Vol.2, Ac.P.*(1965).
- Rossi,H.H.: Spatial distribution of energy deposition by ionizing radiation. *Rad. Res. Supplm.* 2 ,290(1960).
- Sanner,T. and A.Phil: *Rad. Res.* 37, 216- 227(1969).
- Sawada,S. and S. Okada: Rejoining of single-strand breaks of DNA in cultured mammalian cells.*Rad.Res.*41(1970).
- Seibold,G.: Diplomarbeit ,1968, *Naturw. Fak.,Gießen*
- Setlow, J.K:Effects of UV on DNA ; correlations among biological changes,physical changes and repair mechanisms. *Photochem. Photob.* 3, 405-413(1964).
- Setlow,R.B. and J.K.: Evidence that UV induced Thymine dimers in DNA cause biological damage. *Proc.Natl.Acad.Sc.(US)* 48, 1250-1257 (1962).
- Sinsheimer,R.L.: *J.Mol.Biol.* 1 ,43 (1959).
- Sax,K.: The stimulation of plant growth by ionizing radiation. *Rad. Bot.* 3,179 -186(1963).

- Sparrow, A.H. and E.Christensen: Tolerance of certain higher plants₆₀ to chronic exposure to gamma radiation from C₆₀. Science 118,697-698(1953).
- Sparrow,A.H. and Evans,H.J.: Nuclear factors effecting radiosensitivity II . Brookh.Symp.Biol.14(1961).
- Sparrow,A.H.; L.A.Schairer and R.C.Sparrow: Relationship between NuclearVolume, Chromosome numbers and relative Radiosensitivities.Science 141,163(1963).
- Sparrow,A.H.: Relationship between Chromosome-Volume and Radiation sensitivity in plant cells. in Cellular Radiation Biology,Baltimore,1965.
- Sparrow,A.H.: Research uses of the gamma field on related radiation facilities at Brookhaven National Laboratory. Rad. Bot. 6,377 -405(1966).
- Sparrow,A.H.,A.G.Underbrink and R.C.Sparrow: Chromosomes and cellular Radiosensitivity I The relationship of D to Chromosome Volume and complexity in 79 different Organisms.Rad.Res.32,915 -945(1967).
- Summers, W.C. and W.Szybalski: Gamma- irradiation of DNA in dilute solutions II: J.Mol.Biol.26,227-235 (1967).
- Szybalski,W.: Radiation repair and sensitization. Rad.Res. Supplm. 7, 147-159(1967).
- Szybalski,W. and Z.Opara-Kubinska: Radiobiological and physiochemical properties of 5-Bromodesoxyuridine-labeled transforming DNA as related to the nature of chritical radiosensitivity. in: Cellular Radiation Biology ,223-249(1965).
- Taylor,J.H.:The duplication of Chromosomes .in: Probleme der biol. Reduplikation,Springer,1966.
- Terasima,T.and L.J.Tolmach: Variations in several response of HeLa cells to X-irradiation duering the division cycle. Biophys.J. 3, 11-33 (1963).
- Terzi,M. :Comparative analysis of inactivating efficiency of radiation on different Organisms Nature 191, 461-463 (1961).
- Terzi, M. : Radiosensitivity and genetic complexity. J.Theoret. Biol. 8, 233- 243(1965).
- Timofëeff- Ressovsky,N.W. u. K.G.Zimmer : Biophysik I Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig(1947).
- Tschermack-Woess,E. und G.Hasitschka: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma 5,574-614(1953).
- Ulrich,H.: Ein Vergleich der Röntgenstrahlenwirkung auf Kern und Plasma des Drosophila Eis. Biol. Zentralblatt 74 (1955).

- Underbrink, A.G., A.H. Sparrow and V. Pond: Chromosomes and cellular radiosensitivity II. Use of interrelationship among Chromosome-Volume, nucleotid content and D of 120 diverse organisms. Rad. Bot. 8, 205-237 (1968).
- Underbrink, A.G. and A.H. Sparrow: Chromosomes and cellular radiosensitivity III. Note on the inability to demonstrate a correlation between nucleic acid base ratios and radiation response at D in several diverse organisms. Rad. Res. 35, 319-317 (1968).
- Van't Hof and A.H. Sparrow: Growth inhibition, mitotic cycle time and cell number in chronically irradiated root meristems of *Pisum*. Rad. Bot. 3, 239-247 (1963).
- Van't Hof, J. and Ying, H.K.: Simultaneous marking of cells in two different segments of the mitotic cycle. Nature 202, 981-983 (1964).
- Van't Hof, J.: Relationship between mitotic cycle duration, and the average rate of DNA synthesis in the root meristem cells of several plants. Exptl. Cell Res. 48, 39-47 (1966).
- Veatch, W. and S. Okada: Radiation-induced breaks of DNA in cultured mammalian cells. Biophys. J. 9, 330-346 (1969).
- Wacker, A.: Molecular mechanisms of radiation effects. Prog. Nucleic Acid Res. Vol. 1, 369-399 (1963).
- v. Wangenheim, K.-H.: Different effects of polyploidy on radiation response and on aging of differentiated cells. Rad. Bot. 10, 345-350 (1970).
- v. Wangenheim, K.-H.: genetische Defekte und Strahlenschädigung. Rad. Bot. 10, 469-490 (1970).
- Wollmann, E. and A. Lacassagne: Ann. Inst. Pasteur 64, 5 (1940).
- Zimmer, K.G.: Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. Verl. Akad. d. Wiss. u. der Literatur, Mainz, 1960.
- Zirkle, R.E.: Some effects of alpha-radiation upon plants. J. Cell Comp. Phys. 2 (1932/33).
- Zirkle, R.E. and W. Bloom: Irradiation of parts of individual cells. Science 117, 487-493 (1953).

Nachtrag:

- Dowey, D.L. and A. Howard: Cell dynamics in the bean root tip. Rad. Bot. 3, 259-263 (1963).
- Dean, C.J., P. Feldschreiber and J.T. Lett: Repair of X-ray damage to the DNA in *Micrococcus radiodurans*. Nature 209, 49-52 (1966).

Lebenslauf

Ich wurde am 15. Juli 1936 als Sohn des Baumwarts Georg Seibold und seiner Ehefrau Helene, geb. Keil, in Höchst/Odenw. geboren. Ich besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Die Volksschule besuchte ich ab Herbst 1942 in Höchst/Odenw. 8 1/2 Jahre.

Im April 1951 wurde ich als Beamtenanwärter in den Dienst der Deutschen Bundespost beim Postamt Höchst/Odenw. eingestellt. Von April 1951 bis März 1954, während meiner Ausbildung als Postjungbote, besuchte ich die Gewerbliche Berufsschule in Darmstadt. Ab Oktober 1955 wurde ich auf eigenen Antrag zur Oberpostdirektion nach Frankfurt/M. versetzt, wo ich bis 1960 tätig war. Während dieser Zeit besuchte ich ab Herbst 1956 das Abendgymnasium für Berufstätige in Offenbach/Main, um über den 2. Bildungsweg meine Zulassung zum Studium zu erwerben. Dort legte ich nach 3 1/2 Jahren im März 1960 meine Reifeprüfung ab. Ab Sommersemester 1960 begann ich mein Studium an der Justus Liebig-Universität in Gießen mit den Fächern Mathematik und Physik. Nach dem Wintersemester 1962/63 wählte ich dann Biologie als Hauptfach. Ein Semester (WS 63/64) studierte ich an der Universität Hamburg. Nach dem Wintersemester 1965/66 begann ich im Institut für Biophysik in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. H. Schraudolph aus dem Botanischen Institut in Gießen meine Diplomarbeit über "Untersuchungen an Interphasekernen der Wurzelmeristemzellen verschiedener Pflanzen - DNS-Gehalt, Kerngrößen.- Mitosezykluszeit". Im Mai 1968 bestand ich in den Fächern Allgemeine Botanik, Zoologie, Biophysik und Pflanzenphysiologie die Diplomhauptprüfung in Biologie. Danach wählte ich Biophysik als Hauptfach und bekam von Prof. Schraub, dem Direktor des Instituts für Biophysik, vorliegendes Thema als Dissertation. Ab September 1968 wurde ich Verwalter einer wissenschaftlichen Assistenten-

stelle im Institut für Biophysik. Während dieser Zeit war ich außerdem im Rahmen eines Forschungsvorhabens tätig und habe mich mit Fragen über zelluläre Erholungsvorgänge nach UV- und Röntgenbestrahlung bei Hefen beschäftigt. - Seit 1963 bin ich verheiratet.

Meine akademischen Lehrer waren in Gießen die Professoren: Anders, Ankel, v. Denffer, Fritz, Gaier, Hanle, Knapp, Kröhnke, Maruhn, W.P. Neumann, Scherf, Scholtissék, Schräff, Schraudoif, Schwantes, Staudinger, Steubing, Teichmann, Völker, und in Hamburg die Professoren: Caspers, F. Krüger, Nast, Söding, v. Weizäcker.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von 1968 bis 1970 im Institut für Biophysik im Strahlenzentrum der Justus Liebig-Universität Gießen angefertigt.

Für die Unterstützung und Förderung danke ich Herrn Professor Dr. A. Schraub, dem Direktor des Instituts, besonders.

Weiter möchte ich Herrn Dr. Kiefer für viele Anregungen zu dieser Untersuchung und wertvolle Diskussionen während der Ausführung meine Anerkennung aussprechen.

Herrn Dr. Schraudolf aus dem Botanischen Institut danke ich für das Interesse, das er dem Fortgang dieser Arbeit und meiner Ausbildung entgegengebracht hat.

Meinen Kollegen, den Herren Dr. E.-L. Sattler, Dipl.-Phys. W. Trampisch und Dipl.-Phys. E. Schneider, danke ich für kritische Bemerkungen und Diskussionen während der Planung und Ausführung der Experimente.

Für die technische Hilfe bei der Anfertigung der Zeichnungen danke ich Frau H. Pickl und für die Auswertung und Ermittlung der Einzelwerte - es waren ca. 200 000 Einzelmessungen der täglichen Längenzunahme zu registrieren - Frau R. Viviani und Frau E. Brüning.

BAMBERGER FOTODRUCK · RUDOLF RODENBUSCH
8600 BAMBERG · Pöldorferstr. 88 Telefon 0951/31299